



1032 / 14. 2ej

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

"ANÁLISIS HISTOLÓGICO DE LA TOXICIDAD DE LA
FESC-DIPINA, UN COMPUESTO NUEVO DERIVADO
1,4-DIHIDROPIRIDÍNICO"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
P R E S E N T A
BLANCA MARGARITA CONTRERAS PARRA

ASESORES M. EN C. LUISA MARTÍNEZ AGUILAR,
M. V. Z. JORGE TORRES MARTÍNEZ
M. EN C. ENRIQUE RAMÓN ANGELES ANGLIANO.

215014

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO.

SEP 1998

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

"Análisis histológico de la toxicidad de la FESC-dinina un compuesto nuevo derivado I-4 dihidroniridinico."

que presenta la pasante: Blanca Margarita Contreras Barra
con número de cuenta: 3703152-0 para obtener el TITULO de:
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO

A T E N T A M E N T E.

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 25 de Junio de 1993

PRESIDENTE	<u>M.enC. Luisa Martínez Amador</u>	<i>LMA</i>
VOCAL	<u>Q.F.B. Ma. Eugenia R. Posada Galarza</u>	<i>Posada Galarza</i>
SECRETARIO	<u>M.enC. Francisco López Mejía</u>	<i>F. López Mejía</i>
PRIMER SUPLENTE	<u>Q.F.B. Cecilia Hernández Barba</u>	<i>CHB</i>
SEGUNDO SUPLENTE	<u>Q.F.B. Guadalupe Koizumi Castro</u>	<i>Koizumi Castro</i>

AGRADECIMIENTOS

Un pensamiento de infinito agradecimiento a Dios por todo lo que me ha dado.

**A mi esposo Edgar Zayas C.
A mi hijas Daniela Arizbe y Andrea**

Su amor mi dicha, su confianza mi motivación y la bendición de tenerlos y creer en mi es la fuerza para seguir adelante.

Los amo.

**A mi padre Sergio Contreras Sánchez
A mi madre Rosa Parra Réndon.**

Un logro más por ustedes, gracias por la vida y por darme todo lo que necesito, su apoyo y el cobijo de su cariño. Gracias siempre.

A mi madrina Alicia.

Estar a mi lado en todos momentos me enseñan lo grande de tu alma y eso solo puedo agradecerlo con un gran cariño. Te admiro y quiero mucho.

**A mis hermanos
Nadia, Sergio, Alicia y Karla Itzel**

Sin ustedes la vida hubiera sido muy aburrida, el contar siempre conmigo es algo que no quiero que se les olvide los quiero.

A mis abuelitos Margarita Sánchez y Carlos Contreras

Por todo el amor que le han brindado a tu familia, ejemplo de valor y fortaleza .

Te admiro y quiero

A mis tíos

Alicia, Hilda, Raúl, María, Carlos, Rosario, Guadalupe, Ana, Eva, Martín, Alfonso, Erika, y Adelina

Por su ejemplo es el reflejo de lo que hemos logrado.

A mis primos

Hugo, Hilda, Sandra, Raúl, Katia, Martín, Aldo, Carlos, Erick, Debra, Bibiana, Brenda, Alfonso y Ericka.

Por la alegría que siempre hemos compartido al estar juntos.

A mis suegros Héctor Zayas y Graciela Carranza.

Por hacerme sentir parte de su familia, por querer tanto a mis niñas y por la alegría de tenerlos y apoyarnos.

A mis cuñados

Liz, Héctor y Arturo

Por la unión y el cariño que ha nacido entre nosotros.

A mis amigos y compañeros

Silvia, Benjamín, Lucrecia, Bety y a todos los que de alguna manera estuvimos aprendiendo y compartiendo momentos difíciles . Gracias.

M. en C. Luisa Martínez Aguilar

Por su apoyo y guía en el conocimiento y realización de este trabajo .

Mi admiración y mi cariño

M.V.Z. Jorge Torres Martínez

Por su gran apoyo para la realización de este trabajo.

Gracias.

A mis tios.

Elia, Pabi, Silvia, Maythé, Leonor,

Gina, Leobardo, Leonel y Felipe.

Por la alegría de tenerlos.

A mi Abuelita:

Anastacia Y Licho (τ)

Aunque lejos siempre están en
mi corazón.

INDICE

RESUMEN	1
I.- INTRODUCCION	2
1.1. Padecimientos cardiovasculares	3
1.1.1. Importancia y tratamientos	3
1.2. Antagonistas de la entrada de calcio	5
1.2.1. Clasificación del los calcos antagonistas	5
1.2.2. Sitio y mecanismo de acción	6
1.3. Dihidropiridinas	7
1.3.1. Generalidades de las 1,4- dihidropiridinas	7
1.3.2. Estructura general y uso clínico	8
1.4. Un nuevo derivado dihidropiridínico : FESC-DIPINA	9
1.4.1. Antecedentes	10
1.5. Pruebas de toxicidad a nuevos compuestos	11
1.5.1. Pruebas de toxicidad aguda	12
1.5.2. Pruebas de toxicidad subcrónica	12
1.5.3. Pruebas de toxicidad crónica	13
1.6. La técnica histiológica	14
II.- OBJETIVO E HIPOTESIS	17

III.- METODO	
3.1. Pruebas de toxicidad	18
3.2. Material biológico	18
3.3. Material y equipo	18
3.4. Reactivos	18
3.5. Procedimiento	18
IV.- RESULTADOS	20
V.- ANALISIS DE RESULTADOS	32
VI.- CONCLUSIONES	34
VII.- APENDICE I	35
VIII.- BIBLIOGRAFÍA	57

INDICE DE FIGURAS

No. 1	Síntesis de Häntz para piridinas	7
No. 2	Estructura general de las 1,4-dihidropiridinas	8
No. 3	Estructura general de las 1,4- dihidropiridinas Sintetizadas en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.	9
No. 4	Células de pulmón de animal control en tratamiento crónico a 6 meses con vehículo (CMC 1%). Congestión generalizada	24
No. 5	Células de pulmón de animal tratado sometidas a un tratamiento crónico a 6 meses con FESC-DIPINA. Congestión generalizada	25
No. 6	Células de pulmón de animal control en tratamiento crónico a 6 meses con vehículo. Conglomerado de macrófagos.	26
No. 7	Células de pulmón de animal tratado sometidas a un tratamiento crónico a 6 meses con FESC-DIPINA Conglomerado de macrófagos.	27
No. 8	Células de riñón de animal control en tratamiento crónico a 6 meses con vehículo (CMC 1%). Congestión generalizada	28
No. 9	Células de riñón de in animal tratado sometidas a un tratamiento crónico a 6 meses con FESC-DIPINA. Congestión generalizada.	29
No. 10	Células de intestino delgado de animal control en tratamiento crónico a 6 meses con vehículo (CMC 1%) Destrucción de vellosidades.	30
No.11	Células de Intestino delgado de animal tratado sometidas a un tratamiento crónico a 6 meses con FESC-DIPINA. Destrucción de las vellosidades.	31

ABREVIATURAS

mg/Kg	miligramo por kilogramo de peso.
DL50	Dosis letal cincuenta
MAO	Monoaminoxidasa
OMS	Organización Mundial de la Salud
CCOV	Canales de Calcio operador por voltaje
CMC	Carboximetilcelulosa

RESUMEN

La Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán conjuntamente con el Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, se han dedicado a la síntesis de nuevos compuestos químicos, entre ellos derivados 1,4 dihidropiridínicos. De este grupo de compuestos surgió una molécula nueva perteneciente a este grupo llamada FESC-DIPINA. En estudios experimentales ha mostrado efectos farmacológicos de vasodilatación, antihipertensivo y antiarritmico.

Además ha mostrado capacidad para expulsar calcio de las mitocondrias, por otro lado se ha analizado la toxicidad crónica a nivel hepático y esto ha mostrado que el compuesto no alteró los parámetros de la función hepática, determinada a nivel enzimático.

Por lo que el propósito de este trabajo fué determinar qué otros posibles efectos tóxicos pudiera presentar la FESC-DIPINA. Para cumplir estos objetivos, utilizamos ratas wistar macho de 200-250 gr. de peso, los cuales fueron sometidos a un tratamiento subcrónico y crónico de este compuesto, el cual consistió en la administración por vía oral de, mismo, en una dosis de 3.1 mg./ kg. de peso durante seis meses.

Posteriormente estos animales fueron sacrificados y se les tomó muestras de diferentes órganos como riñón, intestino delgado, pulmón. Estas muestras se procesaron para el análisis óptico mediante la técnica de tinción de hematoxilina-eosina.

Los resultados muestran una estructura similar de los tejidos en los órganos de animales que estuvieron sometidos al tratamiento de la FESC-DIPINA en relación a los observados en los grupos control

Los resultados obtenidos muestran que este compuesto no presenta efectos tóxicos significativos al administrar la dosis terapéutica durante todo el tratamiento crónico, en los órganos estudiados, sin embargo, se sugiere continuar con el análisis de toxicidad en otros órganos, tales como corazón, cerebro, entre otros. para continuar con la investigación experimental de este compuesto.

I.- INTRODUCCION

Durante los últimos decenios las enfermedades cardiovasculares están entre los principales problemas de salud en el mundo y específicamente en México aparece entre las primeras tres causas de mortalidad general.

El tipo de enfermedades cardiovasculares que afectan a la población mexicana son las debidas a hipertensión arterial y aterosclerosis que son las mas prevalentes.(1)

Un grupo de fármacos que ha ganado gran aceptabilidad para el tratamiento de una gran variedad de trastornos cardiovasculares son los fármacos antagonistas del canal de calcio.

Un grupo de moléculas de la clase de las dihidropiridinas son de especial atractivo para el tratamiento de la angina de pecho y la hipertensión arterial, debido a la gran selectividad vascular, al perfil que presentan de efectos secundarios y la farmacocinética que permiten la administración de una dosis única diaria.(1)

Ahora los medicamentos se diseñan y sintetizan con base en un conocimiento de los mecanismos de su acción farmacológica, en los cambios a nivel celular y molecular. (16). FESC-DIPINA es el compuesto de reciente creación sintetizado en los laboratorios de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, contando con el apoyo de un programa de cómputo llamado CRAY YMP 4/432 de la Universidad Nacional Autónoma de México (24)

Dicha molécula se encuentra dentro del grupo de las 1-4 dihidropiridinas, y al valorar su acción farmacológica in vivo, en este caso en animales de laboratorio (ratas wistar) , presentó efecto vasodilatador, efecto antiarritmico y capacidad para expulsar el calcio de las mitocondrias.

Una vez que los efectos farmacológicos han sido comprobados, se propone un avance en la investigación del fármaco, y consiste en el planteamiento de estudios preclínicos de toxicidad, para determinar las posibilidades de riesgo en su uso para valorar el riesgo en su uso para personas.

Hasta ahora hay diversos procedimientos para aplicar pruebas de toxicidad, uno de ellos incluye estudios de .

- 1.- Toxicidad aguda.
- 2.- Toxicidad subcrónica
- 3.- Toxicidad crónica

La diferencia entre estos procedimientos radica en el tiempo de exposición al fármaco y la dosis empleada.

El estudio de toxicidad se realiza en grupo de animales sanos, del cual se obtendrá información importante para el estudio preclínico de toxicidad del compuesto.

1.- Toxicidad aguda: Es producida por la administración de dosis únicas hasta llegar a un nivel letal (DL50)

2.- Toxicidad subcrónica y crónica: Es producida por la administración de dosis múltiples de especial importancia si se contempla un uso prolongado de dicho fármaco.

Este tipo de estudios busca precisar si el fármaco actúa como un tóxico acumulativo, es decir, si se tiene una fijación fuerte en los tejidos, o si los procesos metabólicos y de eliminación no son favorables para que el fármaco desaparezca en un tiempo adecuado.

En el siguiente estudio se propone un análisis histológico de los tejidos de órganos, pulmón, riñón, intestino delgado de los animales sometidos a un tratamiento de toxicidad subcrónica y crónica con FESC- DIPINA, y de su respectivo grupo control, administrados por vía oral con vehículo que fué carboximetilcelulosa al 1%.⁹

1.1. PADECIMIENTOS CARDIOVASCULARES

Hoy en día los padecimientos cardiovasculares en México, aparecen entre las tres principales causas de mortalidad general, las enfermedades que afectan principalmente a la población mexicana son la hipertensión arterial y la arteriosclerosis (16)

1.1.1. Importancia y tratamiento.

La hipertensión es un problema de salud pública muy importante, varios estudios indican que la prevención en México es de alrededor del 10 al 20% en adultos y 4% en niños y jóvenes (4)

Los problemas de hipertensión y arteriosclerosis no son los principales padecimientos peligrosos sino también la muerte por enfermedad cerebral vascular. Se puede afirmar que el 60% de los humanos con padecimientos cardiovasculares fallecen a consecuencia de las enfermedades(1)

El tratamiento para estas enfermedades se realiza en dos partes diferentes , pero ambos se complementan para obtener un mejor resultado en los pacientes sometidos al tratamiento.

a) Tratamiento no farmacológico.

Actualmente surge un renovado interés por el empleo de medidas no farmacológicas para el tratamiento de la hipertensión aunque para la mayoría de los médicos es más fácil y práctico emplear medicamentos desde las etapas tempranas del tratamiento, debido sobre todo a lo difícil que resulta someter a los pacientes al régimen sin fármacos. (7)

- 1.- Reducción de peso
- 2.- Suspender el tabaquismo
- 3.- Suspender la cafeína
- 4.- Beber con moderación, no más de 60 ml de alcohol etílico al día
- 5.- Ejercicio aeróbico o educación física
- 6.- Evitar el ejercicio isométrico .
- 7.- Modificaciones de conducta (evitar estrés)
- 8.- Descontinuar medicación concomitante que incrementa la presión sanguínea: .
 - Anticonceptivos
 - Antiinflamatorios no esteroideos (indometacina, otros)
 - Antihistamínicos y sus combinaciones
 - Corticosteroides y mineralocorticoides, esteroides anabólicos
 - Simpaticomiméticos y derivados de anfetaminas
 - Carvenoxolona o regaliz
 - Antidepresivos tricíclicos
 - Inhibidores de la MAO
 - Alcaloides de ergotamina
 - Anoréxico con anfetaminas
 - Toxinas : talio, cadmio, plomo, entre otras
- 9.- Nutricionales:
 - Restricción de sodio
 - Suplementos de potasio
 - Adecuar la ingesta de grasas saturadas y poliinsaturadas

Es importante sugerir estas medidas a todas las personas sanas como actividades preventivas, hay evidencias de la gran utilidad para el descenso de las cifras tensionales que se obtienen siguiendo estas medidas

b) Tratamiento farmacológico.

Cada paciente merece tener un tratamiento individual y al ir progresando la investigación farmacológica en padecimientos cardiovasculares, se cuenta actualmente con una gran variedad de fármacos para estos padecimientos.⁽⁸⁾

Hay diversas clases de fármacos como son:

- **Diuréticos:** Su mecanismo de acción es la eliminación de sodio y agua y con esto disminuye el volumen plasmático y el gasto cardíaco.
- **β -bloqueadores:** (Bloqueadores de los receptores β -adrenérgicos) Hay inhibición competitiva de la actividad β -adrenérgica.
- **Inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (IECA):** Su modo de acción es la reducción de la presión arterial por los IECA, es el marcado descenso de los niveles que circulan en sangre de angiotensina I, que eliminan la vasoconstricción, directa que ésta les induce por este péptido.
- **Los antagonistas de calcio:** Su uso en el tratamiento de padecimientos cardiovasculares como hipertensión, angina de pecho y arritmia, es cada vez más difundida, constituyendo así una clase bien establecida de agentes farmacológicos. Esta clase de fármacos disminuye la presión arterial sanguínea bloqueando la entrada del ión calcio , esto provoca que el músculo liso vascular se relaje y se dilate, esto sucede principalmente en las arteriolas. Mejora los síntomas de la angina de pecho al aumentar el flujo sanguíneo, en el miocardio por medio de la vasodilatación de las arterias coronarias y reduce así la demanda de oxígeno. ⁽²²⁾

1.2. ANTAGONISTAS DE LA ENTRADA DE CALCIO.

En este grupo se incluyen fármacos de uso clínico como el Verapamil, Nifedipina y Diltiazem, constituyendo una clase de fármacos bien definida de uso común para tratar varias condiciones clínicas como hipertensión, arritmias y angina de pecho

1.2.1. CLASIFICACION DE LOS CALCIO ANTAGONISTAS

En la actualidad los fármacos calcio antagonistas comprenden un grupo químicamente heterogéneo de compuestos. La OMS los ha clasificado en seis grupos diferentes, en base a su estructura química y su perfil farmacológico y estos son:

- 1.- Compuestos relacionados con Verapamil (Fenilalquilaminas)
- 2- Compuestos relacionados con Nifedipina (**dihidropiridinas**)
- 3- Compuestos relacionados con el Diltiazem (benzodiazepinas)
- 4- Compuestos relacionados con Flunarizina
- 5- Compuestos relacionados con Prenilamina
- 6- Otros como caroverina o perhexilina

Los compuestos de los grupos 1, 2 y 3 son sustancias altamente selectivas para los canales lentos de calcio y los del grupo 4, 5 y 6 incluyen compuestos que además tienen efecto inhibitorio sobre los canales rápidos de sodio.

En general los compuestos del grupo 1 y 3 ejercen su efecto sobre el miocardio en cambio los del grupo 2 tienen mucha mayor afinidad por los canales de calcio a nivel vascular y son el grupo que se ha expandido con mayor rapidez. (11)

1.2.2 . SITIO Y MECANISMO DE ACCION.

Los fármacos calcio antagonistas actúan inhibiendo directamente el flujo de calcio hacia la célula a través de canales de calcio dependientes del voltaje localizados en la membrana celular.

Los canales de calcio se encuentran en la membrana celular y son glicoproteínas alargadas y extendidas en la membrana que funcionan como válvulas para iones selectivos, el canal se abre y cierra para permitir el movimiento de calcio en dirección de un gradiente de concentración electroquímico. (11)

Se han caracterizado cuatro subtipos de canales de calcio dependientes de voltaje (CCOV) y son los N, T, L, P.

Los de tipo N, T, P, son insensibles a los calcio antagonistas y los subtipos N y T localizados solo en neuronas participan en la liberación de neurotransmisores

Los calcio antagonistas actúan selectivamente sobre los CCOV de tipo L (long lasting), que están involucrados en el acople, excitación, contracción del músculo cardíaco.

1.3. DIHIDROPIRIDINAS.

1.3.1. GENERALIDADES DE LAS 1,4, DIHIDROPIRIDINAS

La piridina es un compuesto heterocíclico de 6 miembros, siendo el heteroátomo el nitrógeno. Por su semejanza con el benceno tiene importantes propiedades.
(23)

La piridina es un compuesto descubierto en 1849 por Anderson, producto de la destilación del aceite de los huesos. Se encuentra en la naturaleza en forma abundante formando parte de la piridoxina, nicotina, nicotinamida.

Las 1,4 dihidropiridinas se conocen desde 1882 al ser obtenidas por Häntzsch, como intermediarios de reacción (estables) en su síntesis de piridinas.

La reacción general para su obtención es:

a).- La condensación de un aldehído con un B-cetoéster y una fuente de amoníaco dando la 1,4 dihidropiridina.

b).- La oxidación posterior de ésta para obtener la piridina sustituida.

La molécula prototipo de las 1.4 dihidropiridinas es la nifedipina, cuya estructura base es la 4 aril- 1,4 dihidropiridina. Estas dihidropiridinas fueron de poco interés en los años 60's cuando se descubrió que tenían propiedades farmacológicas.

Pero es ahora cuando se empiezan a sintetizar una gran cantidad de dihidropiridinas y sus derivados. (nifedipina, nicardipina, nitrendipina, y entre ellos fescdipina)

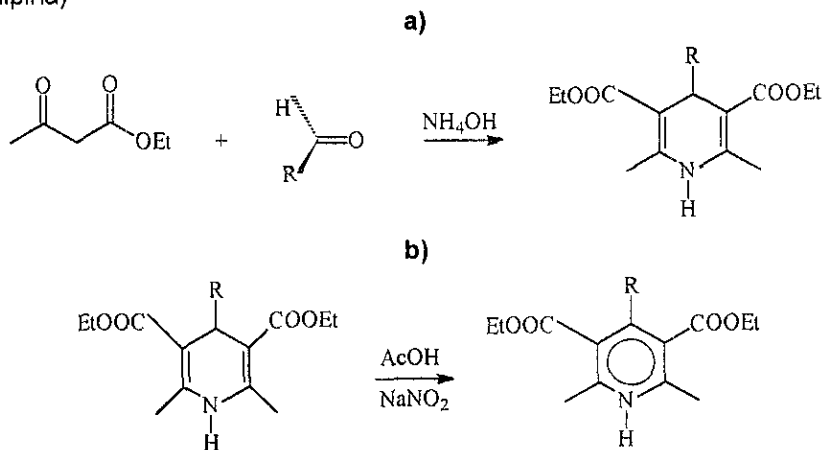


Fig. No. 1.- Síntesis de Häntzsch para piridinas.

1.3.2. ESTRUCTURA GENERAL Y USO CLINICO

Las dihidropiridinas son bloqueadores muy selectivos y potentes de la entrada de calcio y son ampliamente utilizados en los padecimientos cardiovasculares más frecuentes.

Las dihidropiridinas han sido objeto de una cantidad muy grande de estudios y sometidas a tratamientos preclínicos y de investigación básica como agentes farmacológicos potenciales para otro tipo de padecimientos, como son profilaxis de la migraña.

La selectividad vascular que presentan tiene ventajas sobre otros fármacos calcio antagonistas.

- Tienen efecto diurético lo que favorece su actividad antihipertensiva
- Ofrecen poca o ninguna interacción con otros fármacos empleados en el tratamiento de algún otro padecimiento
- No tienen efecto sobre el sistema de conducción del miocardio, son mucho más seguras que otros calcio antagonistas en pacientes sometidos a terapia con algún otro β bloqueador y en pacientes con obstrucción del corazón. (1)

ESTRUCTURA GENERAL

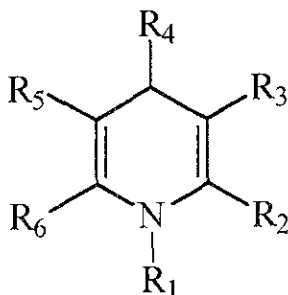


Fig. 2.- Estructura general de las 1,4-Dihidropiridinas.

Las 1,4-Dihidropiridinas obtenidas por la síntesis de Häntzsch ofrece varias posibilidades para modificar su estructura.

1.4 UN NUEVO DERIVADO DIHIDROPIRIDINICO.- FESC-DIPINA.

Los nuevos productos desarrollados a partir de la nifedipina, como sustancia estándar, y la diferencia farmacológica procede en dirección a aumentar la selectividad vascular y la duración de la acción.

Es así como surge recientemente la síntesis de un compuesto que pertenece al grupo de las 1,4 dihidropiridinas, la cual fué sintetizada y llamada FESC-DIPINA. Este nuevo compuesto y su estudio conformacional se realizó usando la super computadora CRAY YMP 4/ 4 32 de la UNAM y se utilizaron programas especializados como UNICHEM, ALCHEMY, y CHEM-X y se caracterizó por resonancia magnética nuclear protónica y de carbono 13, por espectrometría de masas, por infrarrojo, y por ultravioleta

La modificación de dichos compuestos se realizó en la posición 4 de la estructura base.

ESTRUCTURA GENERAL

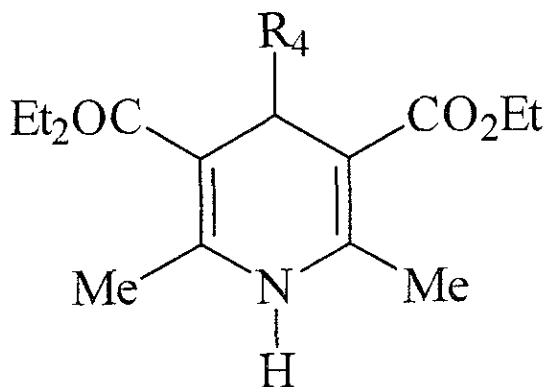


Fig. 3.- Estructura general de los compuestos 1,4-dihidropiridinicos sintetizados en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

1.4.1 ANTECEDENTES DEL ESTUDIO DE FESC-DIPINA.

La acción farmacológica de este compuesto fué valorada en animales de laboratorio, algunos modelos utilizados para esta valoración fueron:

- Se utilizó el modelo de presión arterial directa en rata anestesiada, los resultados obtenidos fueron que mostró un efecto hipotensor significativo.(2)
- Se utilizó un modelo en aorta de rata, de lo cual resultó que presentó un efecto vasodilatador.(2)
- Se utilizó el modelo experimental de isquemia y reperfusión miocárdica en rata anestesiada, el resultado obtenido fué que en lotes tratados con FESC-DIPINA no se desarrollaron arritmias cardíacas, por lo que sugiere que dicho compuesto protege de las arritmias por reperfusión por un efecto en la frecuencia cardíaca.(19)
- Se determinó su efecto cardioprotector en el modelo de infarto miocárdico inducido mediante la oclusión coronaria en rata consciente mediante técnicas convencionales de microscopía electrónica para determinar los cambios morfológicos en el corazón.(19)

El siguiente paso experimental es el estudio de pruebas toxicológicas, ya que cualquier fármaco acarrea con él ciertos riesgos para de esta manera obtener datos para valorar la seguridad en el uso humano, ya que de los datos toxicológicos podemos estimar el grado de peligro del nuevo compuesto.

Existen varios procedimientos para las pruebas de toxicidad, Incluyendo entre ellos, estudios de toxicidad aguda, toxicidad subcrónica y toxicidad crónica.

La diferencia principal entre estos tipos de toxicidad es el tiempo de exposición al agente químico y la dosis empleada.

Se han realizado una serie de estudios tratando de evaluar la toxicidad probable que pudiera causar este nuevo compuesto denominado FESC-DIPINA y se han obtenido resultados de la toxicidad en hígado en ratas Wistar macho.

En lo referente a la toxicidad aguda no se ha determinado un valor para la dosis letal 50 (DL50) ya que se administraron dosis tan elevadas hasta de 310 mg. / Kg. y no se llegó a la dosis letal 50 lo que podría indicarnos que el compuesto presenta un margen de seguridad muy amplio.

Del análisis estadístico realizado a las determinaciones bioquímicas en hígado se tiene que la glutamiltranspeptidasa, la fosfatasa alcalina, la transaminasa-glutamicopirúvica, glucógeno, y el proceso de lipoperoxidación, estas pruebas no mostraron una alteración significativa estadísticamente con relación a su grupo control

Con respecto a los resultados obtenidos en el estudio de toxicidad subcrónica no se encontró diferencia significativa en ninguno de los parámetros cuantificados.

A nivel histológico los cortes realizados en el hígado de los animales estudiados se demostró que FESC-DIPINA no provoca la modificación de la estructura del hepatocito así como tampoco. se observan anomalías como podrían ser necrosis o presencia de células cancerígenas, a pesar de que se ha demostrado que el compuesto no actúa como tóxico acumulativo en animales de experimentación, y que el hígado conserva su función normal, se debe proceder con precaución al administrar en humanos, ya que debemos tomar en cuenta que pueden existir fenómenos de hipersensibilidad.(1)

También se ha realizado un estudio genotóxico in vivo de FESC-DIPINA mediante la evaluación de la frecuencia de intercambios de cromátidas hermanas, donde FESC-DIPINA muestra incremento de la frecuencia de éstas en dosis muy elevadas. Se considera a la FESC-DIPINA como un agente genotóxico en la dosis de 60 mg/Kg.(2)

1.5 PRUEBAS DE TOXICIDAD A NUEVOS COMPUESTOS

En principio todas las nuevas sustancias químicas requieren de una evaluación de la seguridad antes de ser manufacturadas y vendidas.

Definiremos algunos conceptos básicos para la introducirnos en nuestro trabajo y consideraremos:

Agente tóxico como una sustancia capaz de producir un efecto nocivo en un organismo vivo, desde el daño de sus funciones hasta la muerte

Toxicidad, es la capacidad de un agente químico para producir un efecto nocivo sobre los seres vivos. La toxicidad puede depender de la estructura química del compuesto de los grupos funcionales presentes en la molécula, del conocimiento de las reacciones de dichos grupos en los organismos a nivel bioquímico, su conocimiento es esencial para la predicción del sitio de acción y su toxicidad.(6)

Para evaluar la toxicidad de un agente químico es necesario conocer también los efectos producidos luego de una exposición aguda y también los que se producen después de una exposición subcrónica y crónica

La toxicidad se debe evaluar sobre evidencias en el organismo, ya sea por un efecto manifestado por alteraciones fisiológicas, hematológicas, bioquímicas o histológicas, los efectos tóxicos pueden ser de dos tipos:

Efecto tóxico local, manifestado en el lugar preciso de exposición al agente químico.

Efecto tóxico sistémico, en el que el agente tóxico se ha absorbido, distribuido a un lugar distante del sitio de ingreso.

Al evaluar la toxicidad hay que evitar la presencia de efectos colaterales o indeseables que son los efectos producidos por un medicamento que no es el efecto terapéutico hay que disponer de información acerca del agente tóxico, como órgano blanco, sitio de acción, y efecto principal producido.

Cuando se trata de una sustancia nueva, el punto de partida para la evaluación de la toxicidad es la muerte, este índice es preciso e inequívoco, y la letalidad sirve como medida de comparación entre sustancias que poseen mecanismos y sitios de acción diferentes. (28)

1.5.1 PRUEBAS DE TOXICIDAD AGUDA

La toxicidad aguda está compuesta por los efectos adversos que ocurren en un lapso de tiempo muy breve después de la administración de una dosis única o dosis múltiples administradas en 24 horas.

Las pruebas de determinación de la dosis letal media del compuesto con llevan un protocolo básico que se establece con el número de animales suficiente para un análisis estadístico todos ellos descendientes de hembras sanas que no hayan recibido tratamiento con otros compuestos. Las especies más utilizadas para estos estudios son ratones y ratas y los métodos utilizados para calcular la dosis letal 50 son método gráfico de Lichfield y Wilcoxon, método de papel cuadriculado de probit logarítmico de Miller y Timer y el método de promedios móviles de Thompson y Weil (1).

1.5.2 PRUEBAS DE TOXICIDAD SUBCRONICA

La toxicidad subcrónica involucra la exposición diaria o frecuente al compuesto durante un lapso hasta 90 días aproximadamente, estas pruebas se realizan por tres razones. 1.- Descubrir efectos cuantitativos y cualitativos que por alguna razón pudieran haber pasado inadvertidos después de una prueba con dosis única. 2.- Tratar de homogeneizar los planes clínicos probables de dosis múltiples. 3.- Tratar de cuantificar la toxicidad de las primeras dosis del compuesto para su administración en humanos.

El objetivo de los estudios con dosis múltiples de un compuesto es determinar si actúa principalmente como un tóxico acumulativo, de esta manera comprobar si se fija a los tejidos o si los procesos metabólicos y de eliminación no lo eliminan del cuerpo en un tiempo adecuado y corroborar si el compuesto y sus metabolitos pueden desaparecer, pero los efectos tisulares de cada dosis adicional pueden persistir, ello originaría un cambio de la lesión que pasaría de reversible a irreversible.

De igual manera las pruebas de toxicidad aguda y subcrónica tienen valor limitado para pronosticar los efectos tóxicos crónicos, a consecuencia de :

1.- Las sustancias químicas pueden producir diferentes respuestas tóxicas cuando se administran reiteradamente durante un período de tiempo.

2.- Durante el proceso de envejecimiento hay factores como la sensibilidad tisular alterada, el cambio de la capacidad metabólica y fisiológica y la morbilidad espontánea, pueden afectar el grado y la naturaleza de la respuesta tóxica.

Generalmente los animales de elección son la rata y el perro para las pruebas de toxicidad subcrónica debido a la disponibilidad y la gran cantidad de información básica de esos animales, así como en lo económico.

Al no disponer de datos sobre el destino metabólico de la sustancia química de prueba en el hombre se debe seleccionar una especie de prueba que será aquella que muestre mayor sensibilidad en los estudios agudos y estos se deben realizar con el compuesto que será analíticamente idéntico al que se intente emplear para uso humano.

Por regla general deberá incluirse un grupo control al cual se le administra el vehículo de dosificación o un tratamiento simulado. Posterior al tratamiento se debe evaluar la integridad funcional de los distintos sistemas orgánicos mediante pruebas bioquímicas de la función orgánica y se debe realizar un examen post mortem

1.5.3 PRUEBAS DE TOXICIDAD CRONICA

Estas son pruebas en las cuales los animales se encuentran expuestos la mayor parte de su lapso de vida a las sustancias químicas en estudio han constituido un medio útil para la identificación de sustancias de mayor interés desde el punto de vista de la salud pública . Generalmente, estas pruebas se realizan tratando de establecer los niveles de efecto adverso observado. El objetivo de la prueba es estudiar el potencial carcinógeno de un compuesto, en general se elije la rata , el ratón dado que su lapso de vida es breve y de poder emplear un gran número de estos animales a fin de incrementar la sensibilidad de la prueba.

Expertos en la materia sugieren estudios de toxicidad crónica en especies de animales de roedores o no roedores, podría ser suficiente, bajo las condiciones en las que pueda ser demostrada que la farmacocinética y el metabolismo del fármaco en estas especies es similar a la del hombre.

En el transcurso de la toxicidad crónica deben realizarse diversos estudios con la finalidad de evaluar la integridad funcional de los diversos sistemas orgánicos y sin excepción todos los animales sometidos a la prueba se les debe realizar una autopsia microscópica a fondo, ya que generalmente las decisiones con relación a la inocuidad de un compuesto se basan en estas observaciones.

En cuanto a las pruebas de toxicidad crónica estas suelen ser costosas y también requieren servicios y atenciones de personal especializado ya que se debe poner gran precaución en el diseño, ejecución e interpretación de los resultados de estos estudios.

1.6 LA TECNICA HISTOLOGICA. (9)

La historia es el estudio de la relación entre la estructura y las funciones celulares, en primer lugar, la histología se ocupa de precisar y describir la estructura descubierta mediante diferentes tipos de microscopios en cada sitio del organismo, también se refiere al estudio de la estructura y hay varios métodos con que se estudian estos aspectos en el laboratorio.

Esta se refiere a un conjunto de recursos prácticos utilizado por los histólogos para evidenciar de forma más precisa la estructura de los elementos histológicos de los órganos.

Los más utilizados son:

a) Estudio de células in vitro: un método que ha aportado valiosos datos que consiste en aislar las células determinadas y hacer que crezcan (o por lo menos que se mantengan) en lo que se llama cultivo celular, donde pueden estudiarse minuciosamente por microscopía y otros métodos, se han usado ampliamente los métodos in vitro para definir si una sustancia particular es tóxica para las células vivas y los cambios malignos en la célula provocado por una sustancia o compuesto.

Una ventaja importante es que las células pueden observarse en un medio bien controlado que simule el del organismo.

En el estudio de la histología se emplearán por lo regular preparaciones fijadas y teñidas de órganos en forma permanente, ya que es difícil manejar los tejidos vivos y estos suelen seguir por periodos muy breves.

La forma más conveniente de estudiar la histología es empleando cortes, que son preparaciones permanentes para conservar las características estructurales entre las células de los tejidos esto se hace al realizar un corte al rebanar un fragmento delgado de un a porción pequeña del tejido fijado que después coloreado y montado en medio de un índice de refracción adecuado para un posterior análisis microscópico.

Una técnica muy utilizada es la técnica a la parafina que consiste en:

1.- Muestra del tejido.- Un pequeño fragmento de tejido llamado bloque se obtiene por biopsia, después de la muerte y si es así debe ser lo más rápido posible para evitar la degeneración de los tejidos que ocurre en este caso, hay que diseccionar con cuidado para no deformar la imagen microscópica y debe ser colocada inmediatamente en una solución fijadora.

2.- Fijación.- Para los fines histológicos los fijadores evitan la degeneración post mortem y los cambios que deforman la estructura de los tejidos así como favorecer el endurecimiento de tejidos blandos, esta acción se debe a la coagulación de las proteínas en le tejido, son conservadores e inhiben el crecimiento bacteriano.

Algunos fijadores son formol, alcohol, hay algunas mezclas como líquido de Bouin de Zenker y Susa.

3.- Deshidratación.- El principio es sustituir con parafina el agua que inicialmente estaba en le tejido para coartar fácilmente el bloque histológico, que se realiza con la deshidratación gradual, se logra pasando el bloque de tejido fijado por alcohol de diferentes potencias hasta llegar al absoluto.

4.- Aclaramiento.- El solvente que se utiliza es el Xilol.

5.- Inclusión.- El bloque penetrado por el Xilol, se pasa en parafina caliente varias veces y esta llena los espacios antes ocupados por el agua y al enfriarse endurece la parafina y así preparar el bloque para el corte.

6.- Corte.- Se hacen cortes del bloque histológico en un aparato llamado micro tomo.

7.- Tinción y montaje.- Es para destacar el contraste natural y hacer más patentes varias células compuestos de tejido.

No todos los cortes son perfectos por las técnicas que se emplean en la preparación, los cortes pueden ser, no representaciones exactas, ya que pueden aparecer ciertos "artefactos", que pueden provenir de las sustancias químicas empleadas en la técnica histológica, lo que puede producir contracción. Por

errores de corte, se conduce al plegamiento o ensortijamiento del corte o por defecto en un cuchilla imperfecta.

TINCION HEMATOXILINA- EOSINA.

Los colorantes de empleo general son ácidos o bases, pero de hecho son sales neutras que tienen radicales ácidos o básicos

Esta tinción se base por la afinidad química en los tejidos, estos colorantes son permanentes, está formada por la hematoxilina de Harris. - Esta actúa como colorante básico, su componente cromógeno es el complejo hemateína y aluminio.

El eosina.- Actúa como colorante ácido, como acidófilos y eosinófilos (los que no captaron la hematoxilina)

Las estructuras del núcleo toman color azul, esta coloración es debida a la presencia de ácidos nucleicos , y prácticamente todas las estructuras sitoplasmáticas y sustancias intercelulares toman un color rosa, esto se debe a las proteínas anfóteras.

HIPOTESIS

Si el compuesto FESC-DIPINA presenta toxicidad en los órganos, riñón , pulmón e intestino delgado en tratamientos subcrónico y crónico, entonces se observarán cambios en la estructura de los tejidos de estos órganos.

OBJETIVO

Realizar el estudio de la toxicidad de la FESC-DIPINA , analizando en un tratamiento subcrónico y crónico los efectos sobre la estructura de los tejidos, de los órganos riñón, pulmón e intestino delgado (en ratas Wistar macho).

3.- METODO

3.1.- Pruebas de toxicidad.

Se realizaron pruebas de toxicidad subcrónica y crónica en ratas para analizar los efectos tóxicos ocasionados por administración de FESC-DIPINA.

3.2.- Material biológico.

Se utilizaron un total de cuarenta ratas macho únicamente de 200-250 grande peso, los cuales fueron proporcionados por el bioterio del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CIVESTAV) del Instituto Politécnico Nacional, y durante su evaluación se mantuvieron en las condiciones óptimas (limpieza, alimentación) en el cuarto de granja del laboratorio de farmacología y toxicología de la misma Institución.

3.3.- MATERIAL Y EQUIPO.

- MICROTOMO (HISTOKINETTE)
- Microscopio
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Refrigerador
- Estuche de disección
- Recipiente para el tren de coloración

3.4.- REACTIVOS

- Reactivo de Bouin
- Colorante hemaxilina-eosina
- Alcohol etílico absoluto (Merck)
- Parafina
- Xilol
- FESC-DIPINA
- Agua destilada

3.5.- PROCEDIMIENTO

Para este estudio se utilizaron un total de 40 animales (ratas Wistar macho 250-300 grs.) distribuidos en cinco grupos de ocho animales cada uno, tres animales de cada grupo fueron administrados por vía oral con 0.8 ml. Carboximetilcelulosa al 1%, este compuesto se utilizó como vehículo.

A los cinco animales restantes de cada grupo se les administró FESC-DIPINA diariamente por vía oral en dosis de 3.1 mg/Kg de peso durante los siguientes períodos de tiempo

Tiempo de administración	Estudio realizado
3 meses	Toxicidad subcrónica
4.5 meses	Toxicidad crónica
6 meses	Toxicidad crónica

Después del tiempo establecido de administración diaria de FESC-DIPINA y vehículo en los grupos tratados o vehículo exclusivamente a los grupos control, se procedió a sacrificar a los animales y se les extrajo una muestra de los órganos riñón, pulmón e intestino delgado para la posterior realización de los estudios histológicos, una vez tomadas las muestras de los órganos necesarios, se colocaron en un medio de fijación (reactivo de Bouin), y fueron lavadas las muestras después de 10 horas con etanol al 70% y se conservaron en este compuesto, fueron marcadas con el órgano contenido y el tiempo de administración a que fueron sometidos, posteriormente fueron montadas, y teñidas las preparaciones y así ser observadas posteriormente y analizadas minuciosamente en el microscopio.

Los resultados observados de los tejidos de los animales sometidos al tratamiento en los diversos estudios de toxicidad, se compararon con respecto a los resultados de los animales de su grupo control. Utilizando la prueba estadística denominada "Método de proporciones" (Ver Apéndice 1)

IV.- RESULTADOS

Los siguientes resultados son de las muestras tomadas de los órganos de ratas a las que se les administró 31 mg/Kg de FESC-DIPINA y las muestras de sus animales control.

PULMON

Tejido analizado : PULMON.

Tiempo de administración con FESC-DIPINA y/o vehículo: 3 meses

Estudio : Toxicidad subcrónica

Los efectos observados en el órgano pulmón en los animales control fueron encontradas amplias zonas que presentan compactación alveolar y congestión generalizada en algunas partes de las muestras, en algunas partes el tejido está aparentemente bien y otra parte con problemas inflamatorios.

También hay presencia de nódulos linfoides en las muestras.

Los efectos observados en los animales tratados con FESC-DIPINA sobre este órgano fueron:

Presencia en el tejido de este órgano de congestión generalizada, se observan nódulos linfoides y respuesta inflamatoria intersticial, hay marcada destrucción del epitelio de los bronquiolos y hay alveolos pulmonares compactados, y se observan nódulos linfoides aislados.

Tejido analizado: PULMON

Tiempo de administración: con FESC-DIPINA y/o vehículo: 4,5 meses

Estudio: Toxicidad crónica

Los efectos observados en el órgano pulmón en los animales control fueron

Alveolos normales y en algunos sitios se observan infiltraciones severas cerca de los bronquiolos, en algunos hay presencia de respuesta inflamatoria severa abundante presencia de monocitos, hay macrófagos dispuestos a manera de un conglomerado de células con núcleo esférico, cara abierta y áreas citoplasmáticas, ópticamente vacías. Hay una congestión marcada y pequeños núcleos linfoides activos.

Los efectos observados en el órgano pulmón en los animales tratados fueron.

Congestión generalizada, hay mucha compactación alveolar, hay presencia de abundantes células fagocíticas (macrófagos) se observan también respuesta inflamatoria severa alrededor de los bronquiolos, en los espacios alveolares se encuentran conglomerados de células fagocíticas, hay formación de pequeños nódulos linfoides aislados.

Tejido analizado: PULMON

Tiempo de administración con FESC-DIPINA y/o vehículo: 6 meses

Estudio: Toxicidad crónica

Los efectos observados en el órgano pulmón a los animales control fueron: severa congestión en el tejido, presencia de nódulos linfoides aislados, y zonas con respuesta inflamatoria severa, hay presencia de macrófagos, monocitos y neutrófilos. Hay compactación alveolar muy avanzada y presencia de células fagocíticas (macrófagos) (ver fig. No. 4,6)

Los efectos observados en el órgano pulmón a los animales tratados con FESC-DIPINA fueron: marcada congestión y nódulos linfoides de gran tamaño, se observa presencia de respuesta inflamatoria severa, hay aparente neumonía intersticial, se aprecian zonas con una gran concentración de células fagocíticas con tendencia a agruparse relleno los alveolos pulmonares, hay compactación alveolar. (ver fig.5,7)

RIÑÓN

Tejido analizado: RIÑÓN

Tiempo de administración con FESC-DIPINA y/o vehículo; 3 meses

Estudio: Toxicidad subcrónica

Los efectos observados en el órgano riñón en los animales control fueron: hay ligera congestión en corteza y médula, glomérulos aislados sugestivos de nefritis en una pequeña área de corte, se aprecian también algunos glomérulos en buen estado, hay abundantes áreas con respuesta inflamatoria intersticial en la zona medular y en la zona cortical, hay algunos glomérulos en proceso de destrucción.

Los efectos observados en el órgano riñón en los animales tratados fueron: áreas limitadas pero muy abundantes de inflamación en zona cortical y medular, hay congestión generalizada, glomérulos aislados en proceso de destrucción, zonas con glomérulos hinchados sin cápsula, se aprecia infiltración linfocitaria, no se aprecia en forma definida la cápsula de los glomérulos.

Tejido analizado: RIÑÓN

Tiempo de administración con FESC-DIPINA y/o vehículo: 4.5 meses

Estudio: Toxicidad crónica

Los efectos observados sobre el órgano riñón a los animales control fueron: los glomérulos presentes no tienen definida su cápsula, lo que sugiere presencia de glomerulitis, hay marcada congestión

Los efectos observados sobre el órgano riñón a los animales tratados con FESC-DIPINA, fueron: los glomérulos se encuentran hinchados en su mayoría, hay infiltrado leucocitario, hay glomérulos destruidos, hemorrágicos y congestionados en toda la corteza se observan glomérulos

Tejido analizado: RIÑÓN

Tiempo de administración con FESC-DIPINA y/o vehículo: 6 meses

Estudio: Toxicidad crónica

Los efectos observados sobre el órgano riñón a los animales control fueron: hay glomerulitis severa, ya que en toda la corteza los glomérulos están con su cápsula indefinida, hay congestión marcada. (ver fig. No.8)

Los efectos observados sobre el órgano riñón a los animales tratados con FESC-DIPINA fueron: congestión marcada en los vasos, y pequeñas áreas con infiltración linfocitaria, glomérulos aislados destruidos. (ver fig. No.9)

INTESTINO DELGADO

Tejido analizado: INTESTINO DELGADO

Tiempo de administración con FESC-DIPINA y/o vehiculo: 3 meses

Estudio: Toxicidad subcrónica

Los efectos observados sobre el órgano intestino delgado en los animales control fueron: hay enteritis a nivel de mucosa y principalmente a nivel de vellosidades (en la lámina propia) hay infiltración linfocitaria, y destrucción de las vellosidades en la porción apical. Hay formación de nódulos linfoides que abarcan desde mucosa hasta submucosa. En las criptas o glándulas hay abundancia de eosinófilos correlacionados con alergias, parásitos o con reacciones antígeno-anticuerpo.(ver fig. 10)

Los efectos observados sobre e órgano intestino delgado en los animales tratados con FESC-DIPINA fueron: vellosidades destruidas, leucocitos en forma difusa, hay severa reacción inflamatoria, hay hipersecreción de moco, hay enteritis marcada, abundantes nódulos linfoides.(ver fig. 11)

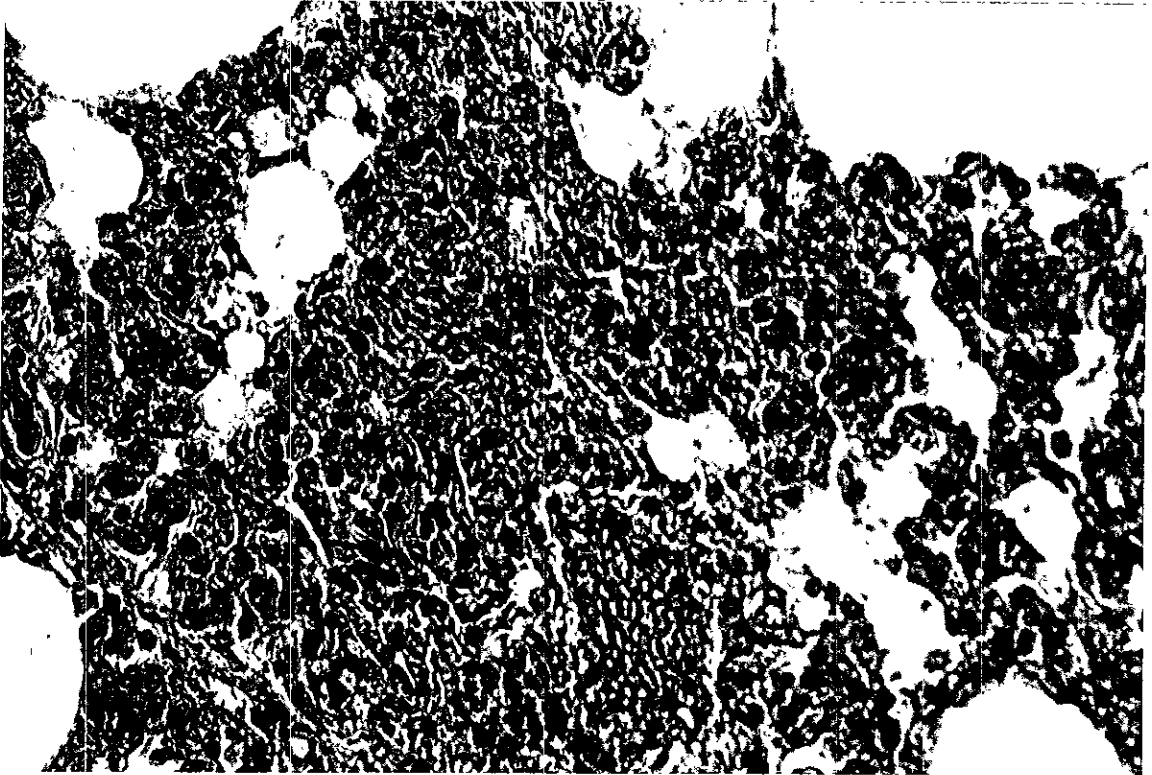


Fig . No. 4.- PULMON. Congestión generalizada en animal control a 6 meses de administración con vehículo. Tinción hematoxilina-eosina.

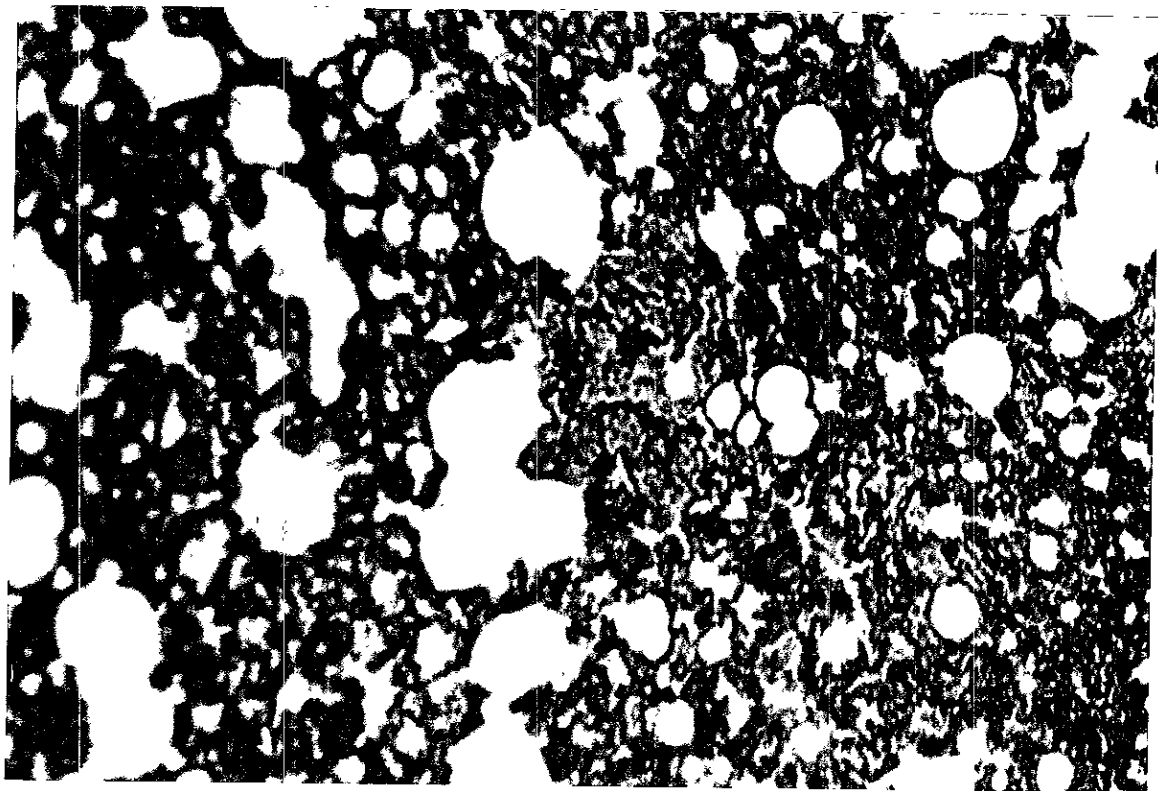


Fig . No. 5.- PULMON. Congestión generalizada en animal tratado a 6 meses de administración con FESC-DIPINA. No hay diferencia significativa con respecto al control. Tinción hematoxilina-eosina.

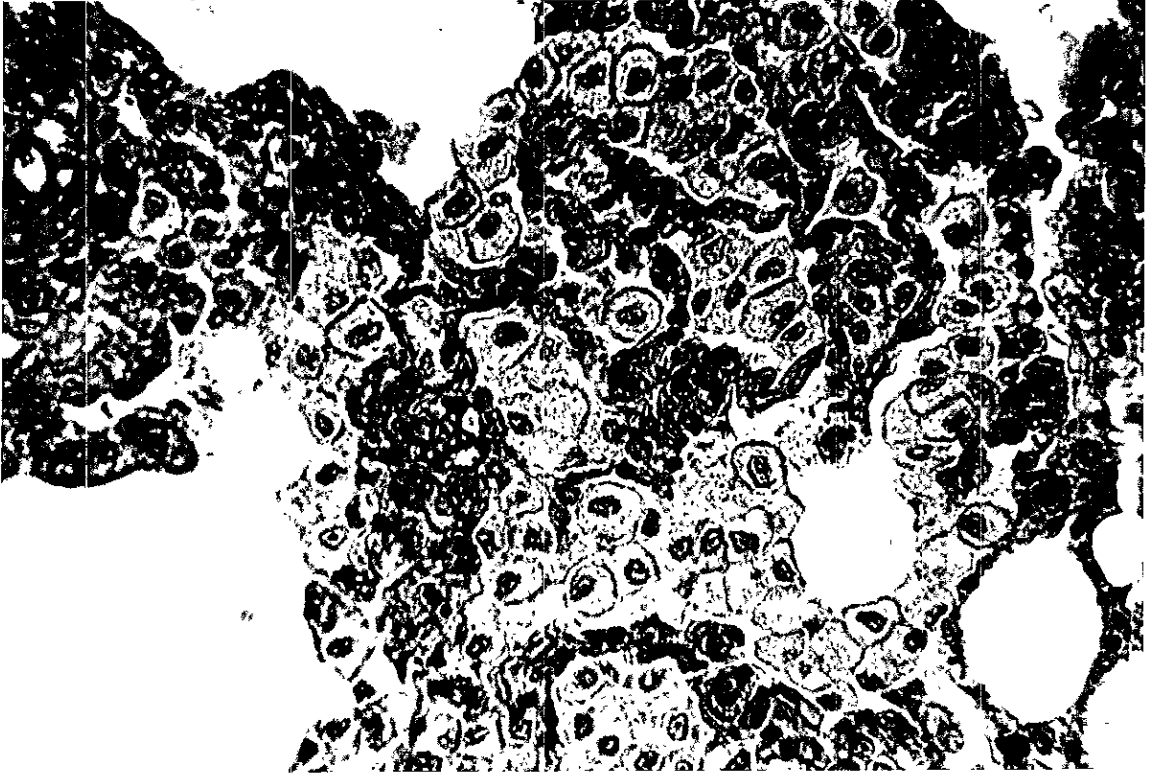


Fig. No. 6.- PULMON. Conglomerado de macrófagos en la luz de los alveolos pulmonares en animal control a 6 meses de administración de vehículo. Tinción hematoxilina-eosina.

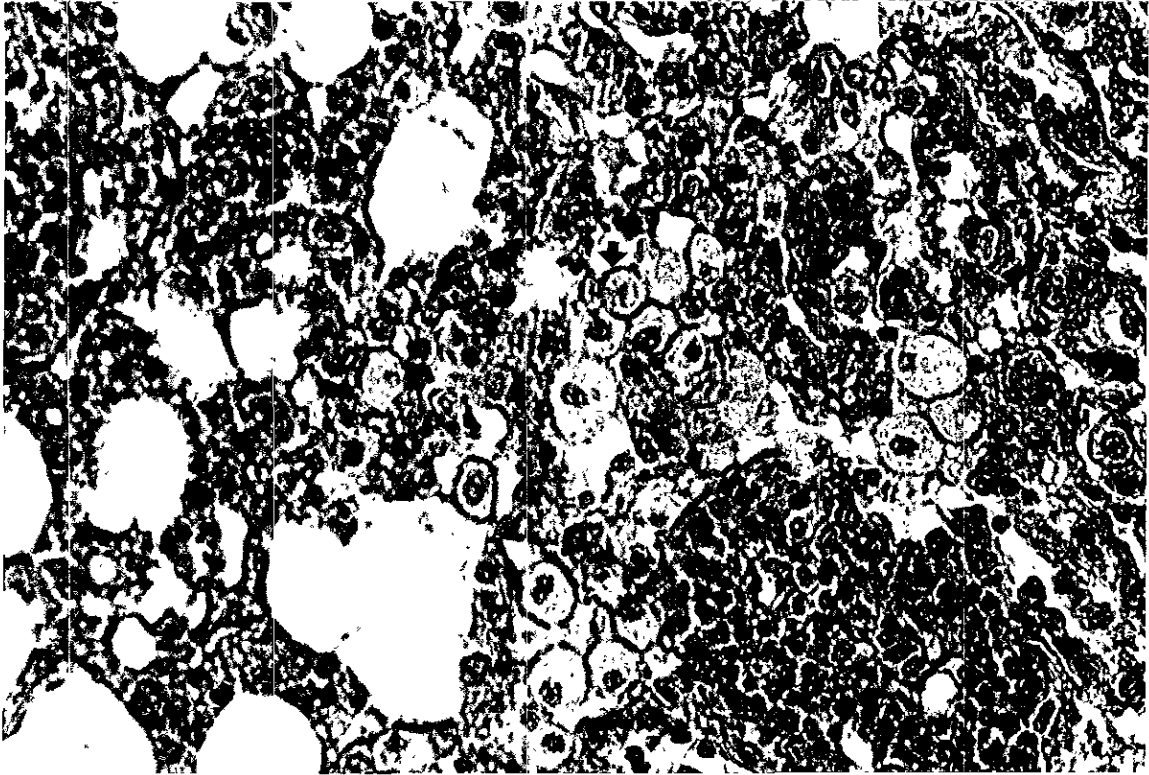


Fig. No. 7.- PULMON. Conglomerado de macrófagos en la luz de los alveolos pulmonares en animal tratado con FESC- DIPINA a 6 meses de administración. No presenta diferencia significativa en relación a su grupo control. La administración del compuesto no altera la estructura celular. Tinción hematoxilina-eosina.

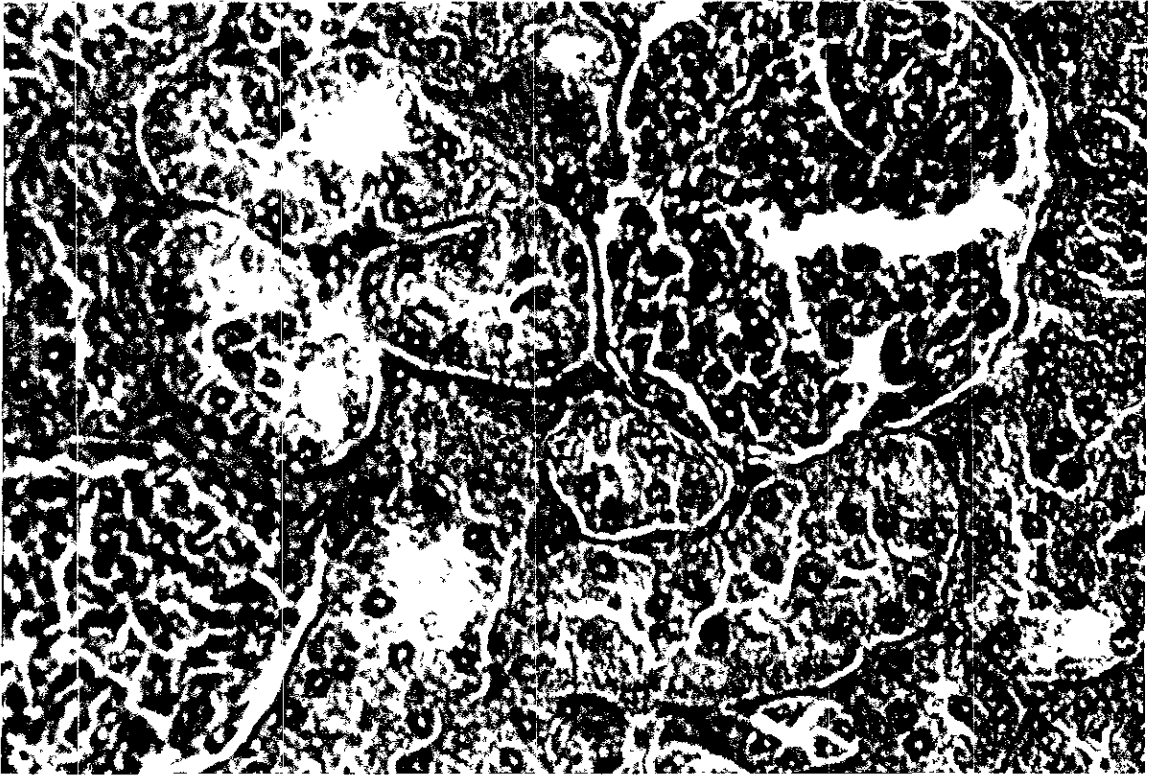


Fig. No. 8.- RIÑON. Congestión generalizada observada por una gran cantidad de células eosinófilas. Células de un animal control a 6 meses de administración con vehículo. Tinción hematoxilina-eosina.

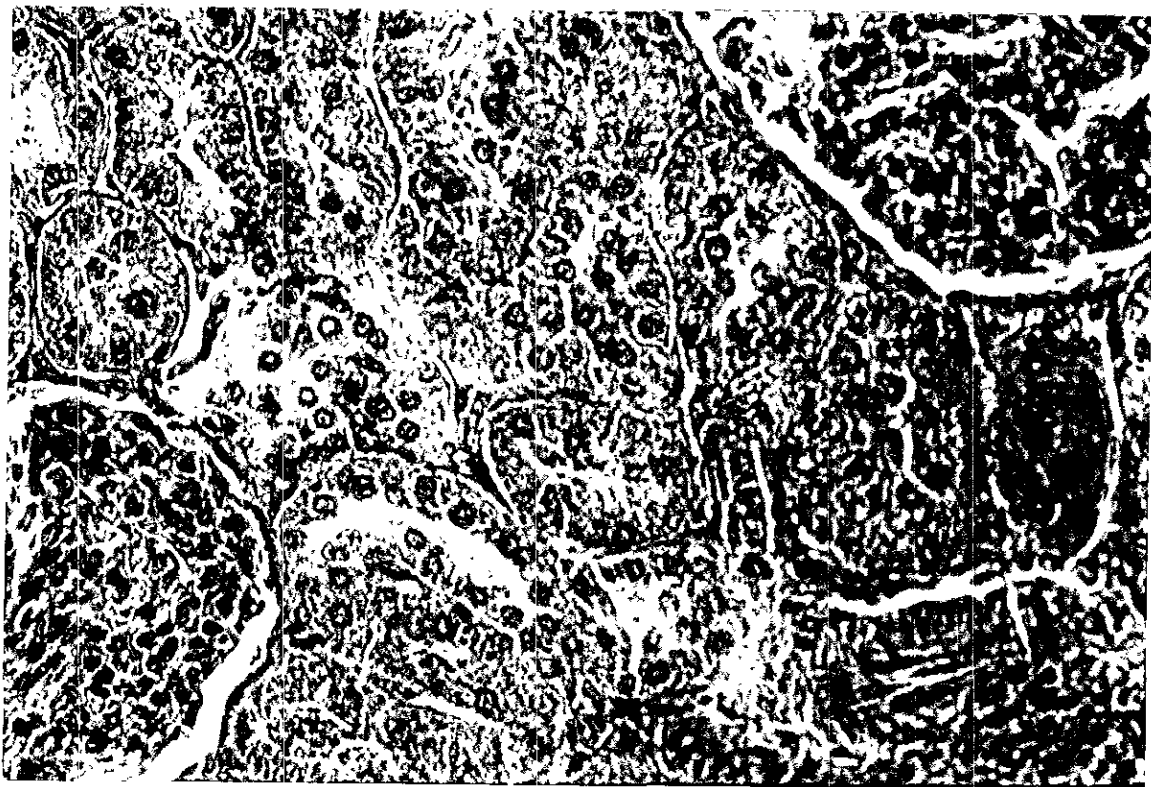


Fig. No. 9.- RIÑON. Congestión generalizada . Células de un animal tratado con FESC-DIPINA a 6 meses de administración. No hay diferencia en relación a su grupo control. El fármaco no alteró la estructura celular. Tinción hematoxilina-eosina.

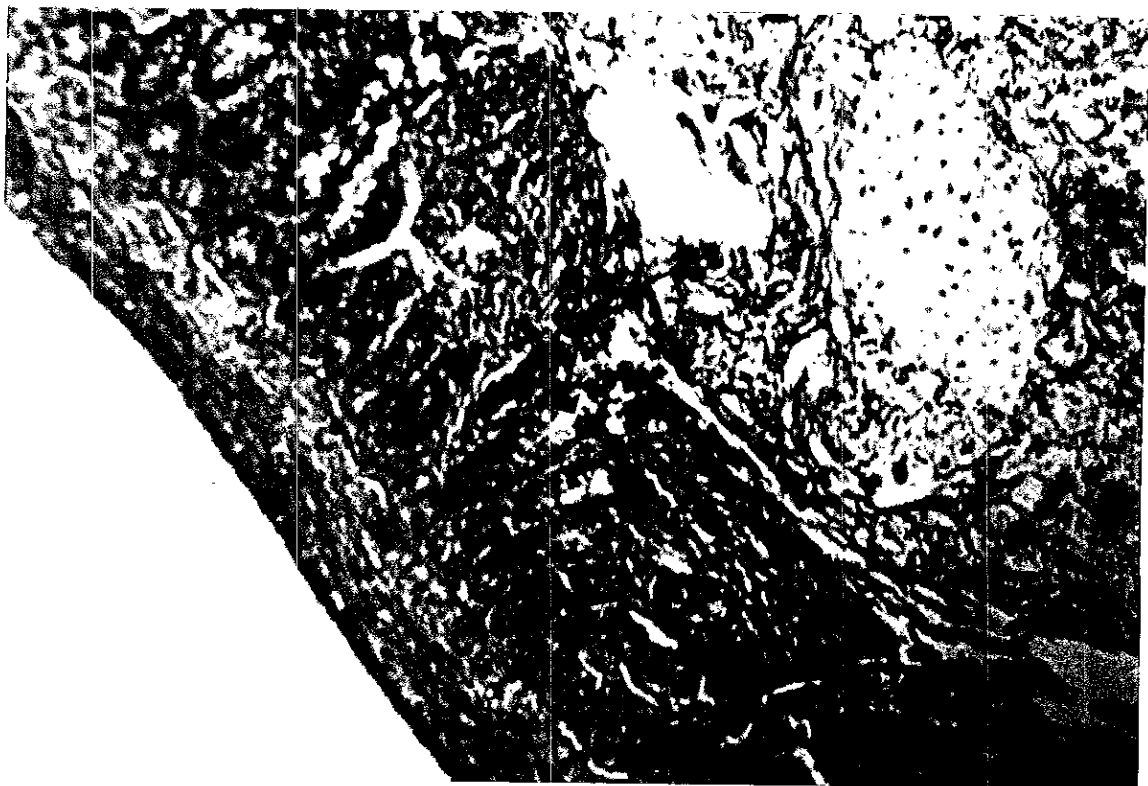


Fig. No. 10.- INTESTINO DELGADO. Se aprecia la destrucción de las vellosidades en la porción apical. Tejido de animal control a 3 meses de administración con vehículo. Tinción hematoxilina-eosina.

Fig. No. 11.- INTESTINO DELGADO Destrucción de las vellosidades de la porción apical. Tejido de animal tratado a 3 meses de administración con FESC- DIPINA. No hay diferencia entre el grupo control y el grupo tratado. Tinción hematoxilina-eosina.

V.-ANÁLISIS DE RESULTADOS

Los órganos analizados histológicamente y los resultados observados nos permiten predecir que el compuesto nuevo denominado FESC-DIPINA, presentó las siguientes características:

En lo referente al órgano PULMON, en las muestras analizadas en el tratamiento subcrónico a tres meses, se observó una congestión generalizada principalmente en las muestras, esta característica presentada se reconoce por una concentración de eosinófilos muy marcada, en la mayor parte del tejido.

Esta congestión generalizada puede atribuirse a un proceso inflamatorio desatado a consecuencia de la vía de administración utilizada, en este caso, vía oral por medio de sonda, y que probablemente existió la desviación del fármaco y vehículo hacia las vías respiratorias en el grupo de animales tratados y vehículo en el caso de los animales del grupo control.

Esto es apoyado por el análisis estadístico el cual señala que no hay una diferencia significativa entre ambos grupos.

En el tratamiento subcrónico de 4.5 meses de administración con FESC-DIPINA, se observaron problemas de respuesta inflamatoria, esta característica se observa por la presencia de células macrófagas presentes en la muestra.

Este tipo de respuesta puede no deberse al fármaco, ya que tanto el grupo control como el grupo tratado presentan esta alteración.

En el tratamiento subcrónico de 4.5 meses se observaron conglomerados celulares de macrófagos presentes en la luz de los alveolos pulmonares.

En el tratamiento crónico a 6 meses se observó de igual manera la presencia de los conglomerados celulares de macrófagos. Es importante hacer notar que dicho conglomerado celular, aparece en ambos grupos, tanto animales pertenecientes al grupo control, como en los animales del grupo tratado.

Lo que nos hace pensar que el fármaco y/o vehículo sufrieron una desviación hacia las vías respiratorias atribuible al método de administración.

En el órgano RIÑÓN se observaron las siguientes características:

A un tiempo de administración de 3, 4, 5, y 6 meses con FESC-DIPINA, y/o vehículo se observó una congestión generalizada en todas las muestras indicado por la presencia de una gran cantidad de células eosinófilas. Esto debido a un proceso inflamatorio provocada por la presencia de un agente externo no

reconocido por el sistema inmunológico. Este agente no es precisamente el fármaco, ya que ambos grupos presentan la misma respuesta.

En el órgano RIÑON la congestión generalizada fué la característica más presente en este órgano.

En el INTESTINO DELGADO a un tiempo de administración de fármaco y/o vehículo de 3 meses con FESC-DIPINA, se observó una respuesta inflamatoria especialmente a nivel de mucosa, se observa una destrucción muy severa de la porción apical del órgano, esta característica puede ser atribuible a la agresividad del vehículo sobre esta parte del tejido, ya que ambos grupos control y tratados presentan esta característica.

A un tiempo de administración de 4.5 y 6 meses de administración del fármaco y/o vehículo, se observó una enteritis en este órgano, esta característica es identificada por la presencia de abundantes células eosinófilas atribuible a la presencia del vehículo, ya que ambos grupos presentan esta característica.

VI.- CONCLUSIONES

El análisis estadístico realizado a las muestras en estudio (ver Apéndice 1) se obtiene que:

Los cortes realizados a los diferentes órganos se demostró que no hay modificaciones en la estructura fundamental de los órganos pulmón, riñón, e intestino delgado provocado por la administración del compuesto denominado FESC- DIPINA.

No se observó la presencia de células que pudieran indicarnos alguna necrosis celular en los tejidos de los órganos correspondientes y tampoco se observan presencia de células indicativas de algún cáncer.

Las alteraciones que llegaron a observarse en los tejidos se presentan tanto en animales pertenecientes al grupo control así como a los animales pertenecientes al grupo tratado, lo que nos indica que el daño no es atribuible al compuesto en estudio.

Los resultados obtenidos en este estudio nos da pauta para poder considerar estudios posteriores para el análisis histológico de otros órganos importantes, para continuar en la investigación de este nuevo compuesto dihidropiridinico que ha mostrado no solo baja toxicidad sino efectos farmacológicos deseables.

APENDICE

APENDICE 1

PRUEBA ESTADISTICA “DIFERENCIA DE PROPORCIONES”

A los resultados obtenidos posteriores al análisis óptico de los tejidos en estudio, se les realizo el siguiente tratamiento:

- 1) Se calculó la proporción en la que se presentaba alguna alteración observada en el tejido en estudio tanto en el grupo control como en el grupo de tratado
- 2) Se compararon éstas proporciones mediante la prueba estadística con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$

PRUEBA ESTADISTICA:

$$Z = \frac{\bar{P}_1 - \bar{P}_0}{\sigma_{P_1}} = \frac{\bar{P}_1 - \bar{P}_0}{\sqrt{\frac{\bar{P}_0 q_0}{n}}}$$

Donde: $\mu_p = \bar{P}_0$ = Media poblacional proporcional
 n = Número de animales del grupo (control y tratados).
 \bar{P}_0 = La proporción del grupo control.
 \bar{P}_1 = La proporción del grupo tratado
 $q_0 = 1 - \bar{P}_0$
 $q_1 = 1 - \bar{P}_1$

MODELO ESTADISTICO

- 1.- $H_0: P_0 = \bar{P}_1$
 $H_A: P_0 \neq \bar{P}_1$
- 2 - Tomando en cuenta que para valores de Z correspondientes a un 95%, el valor de Z en tablas es de 1.960.
 $\alpha = 0.05\% \Rightarrow (-Z_{\alpha/2}, Z_{\alpha/2})$
 $\gamma = 95\%$
- 3 - Por lo tanto rechacese H_0 , si $Z \notin (-Z_{\alpha/2}, Z_{\alpha/2}) = (-1.96, 1.96)$
Aceptese en caso contrario.

PULMON

ORGANO	ANIMALES	3 MESES	4.5 MESES	6 MESES
PULMON	CONTROL $n_0 = 3$ TRATAMIENTO $n_1 = 5$	$P_1 \rightarrow n_0 = 1$ $n_1 = 0$	$P_1 \rightarrow n_0 = 1$ $n_1 = 2$	$P_1 \rightarrow n_0 = 2$ $n_1 = 4$
PULMON		$P_2 \rightarrow n_0 = 3$ $n_2 = 2$	$P_2 \rightarrow n_0 = 1$ $n_2 = 3$	$P_2 \rightarrow n_0 = 1$ $n_2 = 3$
PULMON		$P_1 \rightarrow n_0 = 0$ $n_5 = 1$		
PULMON		$P_3 \rightarrow n_0 = 1$ $n_3 = 2$	$P_3 \rightarrow n_0 = 1$ $n_3 = 4$	$P_3 \rightarrow n_0 = 2$ $n_3 = 5$
PULMON		$P_5 \rightarrow n_0 = 2$ $n_5 = 0$		
PULMON		$P_6 \rightarrow n_0 = 0$ $n_6 = 2$	$P_6 \rightarrow n_0 = 2$ $n_6 = 1$	$P_6 \rightarrow n_0 = 2$ $n_6 = 1$
PULMON		$P_7 \rightarrow n_0 = 0$ $n_7 = 0$	$P_7 \rightarrow n_0 = 2$ $n_7 = 3$	$P_7 \rightarrow n_0 = 2$ $n_7 = 5$
PULMON		$P_8 \rightarrow$		$P_8 \rightarrow n_0 = 0$ $n_8 = 2$

n_0 = animales control que presentan la característica perteneciente a cada prueba
 n_1 = animales tratados que presentan la característica perteneciente a cada prueba

P_1 = Compactación Alveolar.

P_2 = Congestion Generalizada .

P_3 = Respuesta Inflamatoria

P_4 = Destrucción del epitelio bronquiolar

P_5 = Sin cambio patológico aparente

P_6 = Nódulos linfoides

P_7 = Conglomerado de células fagocíticas.

P_8 = Neumonía intersticial

PULMON

TOXICIDAD SUBCRONICA 3 MESES

$P_2 \rightarrow$ Congestión generalizada.

$$n = 8$$

$$\text{Grupo control} = n_0 = 3 \rightarrow 1 \rightarrow \bar{P}_0 = 0.333 \rightarrow \bar{q}_0 = 0.667$$

$$\text{Grupo tratado} = n_1 = 5 \rightarrow 3 \rightarrow \bar{P}_1 = 0.6 \rightarrow \bar{q}_1 = 0.4$$

$$\text{Porcentaje del grupo control } \bar{P}_0 = \frac{1}{3} = 0.333$$

$$\text{Porcentaje del grupo tratado } \bar{P}_1 = \frac{3}{5} = 0.6$$

La prueba estadística que se adecua es la denominada "Diferencia de Proporciones"

$$\mu_{P_0 - P_1} = P_1 - P_2 = \bar{P}_1 - \bar{P}_2 = P_1 - P_2 \rightarrow \mu_{P_0 - P_1} = 0$$

$$\sigma_{P_1 - P_2} = \sqrt{\frac{P_0 - q_0}{n_0} + \frac{P_1 q_1}{m}}$$

$$Z = \frac{(\bar{P}_0 - \bar{P}_1) \overset{\circ}{(-P_0 - P_1)}}{\sqrt{\frac{P_0(q_0)}{n_0} + \frac{P_1(q_1)}{m}}}$$

$$Z = \frac{X - \mu_{\bar{X}}}{\sigma_{\bar{X}}} \rightarrow Z = \frac{\bar{P} - P}{\sigma_{\bar{P}}} = \frac{\bar{P}_0 - P_0}{\sqrt{\frac{P_0 q_0}{n}}}$$

Estadístico para medios

Estadístico para proporciones

Valor de Z correspondiente al 95% = 1.96

PULMON

TOXICIDAD SUBCRONICA (3 MESES)

$P_2 =$ Congestión generalizada

$n = 8$

Grupo control = $n_0 = 3 \rightarrow 1 \rightarrow \bar{P}_0 = 0.333 \rightarrow \bar{q}_0 = 0.667$

Grupo tratado = $n_1 = 5 \rightarrow 3 \rightarrow \bar{P}_1 = 0.6 \rightarrow \bar{q}_1 = 0.4$

1) $H_0 = P_0 = \bar{P}_1$

$H_A = P_0 \neq \bar{P}_1$

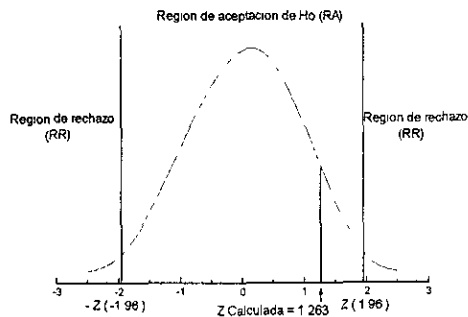
2) $\alpha = 0.05 \Rightarrow (-Z_{\alpha/2}, Z_{\alpha/2}) \Rightarrow (-1.96, 1.96)$

$\gamma = 95\%$

3) Rechacese H_0 si $Z \notin (-1.96, 1.96)$

Aceptese en caso contrario

$$Z = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sigma_{\bar{P}_1}} = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sqrt{\frac{P_0 q_0}{n}}} = \frac{(0.6 - 0.333)}{\sqrt{\frac{(0.333)(0.667)}{5}}} = 1.263$$



Como $Z \in (-1.96, 1.96)$, se acepta H_0 , es decir que se observa que no hay diferencia significativa en la congestión generalizada entre el grupo control y el grupo tratado con FESC-Dipina al 5% de significancia o al 95% de confianza.

PULMON

TOXICIDAD SUBCRONICA (4.5 MESES)

P_3 = Problemas de respuesta inflamatoria

$n = 8$

Grupo control = $n_0 = 3 \rightarrow 1 \rightarrow \bar{P}_0 = 0.333 \rightarrow \bar{q}_0 = 0.666$

Grupo tratado = $n_1 = 5 \rightarrow 4 \rightarrow \bar{P}_1 = 0.8 \rightarrow \bar{q}_1 = 0.2$

$$1) H_0 = P_0 = \bar{P}_1$$

$$H_A = P_0 \neq \bar{P}_1$$

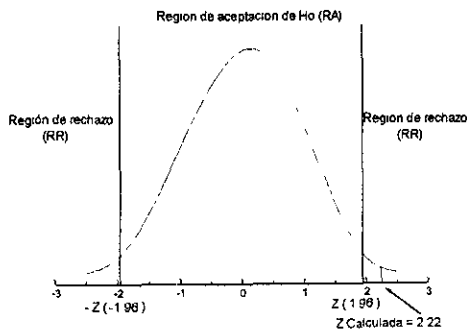
$$2) \alpha = 0.05 \Rightarrow (-Z_{\alpha/2}, Z_{\alpha/2}) \Rightarrow (-1.96, 1.96)$$

$$\gamma = 95 \%$$

3) Rechacese H_0 si $Z \notin (-1.96, 1.96)$

Aceptese en caso contrario

$$Z = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sigma \bar{P}_1} = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sqrt{\frac{P_0 q_0}{n}}} = \frac{(0.8 - 0.333)}{\sqrt{\frac{(0.333)(0.666)}{5}}} = 2.223$$



Como $Z \notin (-1.96, 1.96)$, se rechaza H_0 , es decir que si hay diferencia significativa en los problemas de respuesta inflamatoria entre el grupo control y el grupo tratado con FESC-Dipina al 5% de significancia o al 95% de confianza.

PULMON

TOXICIDAD CRONICA (6 MESES)

Problemas de respuesta inflamatoria

$n = 8$

Grupo control = $n_0 = 3 \rightarrow 2 \rightarrow \bar{P}_0 = 0.666 \rightarrow \bar{q}_0 = 0.333$

Grupo tratado = $n_1 = 5 \rightarrow 5 \rightarrow \bar{P}_1 = 0.833 \rightarrow \bar{q}_1 = 0.167$

1) $H_0 = P_0 = \bar{P}_1$

$H_A = P_0 \neq \bar{P}_1$

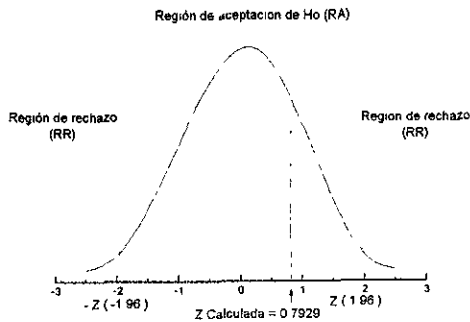
2) $\alpha = 0.05 \Rightarrow (-Z_{\alpha/2}, Z_{\alpha/2}) \Rightarrow (-1.96, 1.96)$

$\gamma = 95\%$

3) Rechacese H_0 si $Z \notin (-1.96, 1.96)$

Aceptese en caso contrario

$$Z = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sigma_{\bar{P}_1}} = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sqrt{\frac{P_0 q_0}{n}}} = \frac{(0.833 - 0.666)}{\sqrt{\frac{(0.666)(0.333)}{5}}} = 0.7929$$



Como $Z \in (-1.96, 1.96)$, se acepta H_0 , es decir que que no hay diferencia significativa en los problemas de respusta inflamatoria entre el grupo control y el grupo tratado con FESC-Dipina al 5% de significancia o al 95% de confianza

PULMON

TOXICIDAD SUBCRONICA (4 5 MESES)

P_7 = Conglomerado de células fagocíticas

$n = 8$

Grupo control = $n_0 = 3 \rightarrow 2 \rightarrow \bar{P}_0 = 0.666 \rightarrow \bar{q}_0 = 0.334$

Grupo tratado = $n_1 = 5 \rightarrow 3 \rightarrow \bar{P}_1 = 0.6 \rightarrow \bar{q}_1 = 0.4$

$$1) H_0 = P_0 = \bar{P}_1$$

$$H_A = P_0 \neq \bar{P}_1$$

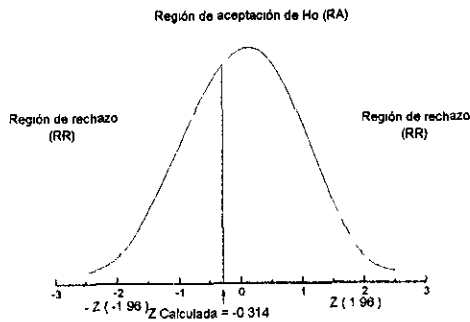
$$2) \alpha = 0.05 \Rightarrow (-Z_{\alpha/2}, Z_{\alpha/2}) \Rightarrow (-1.96, 1.96)$$

$$\gamma = 95 \%$$

3) Rechacese H_0 si $Z \notin (-1.96, 1.96)$

Aceptese en caso contrario

$$Z = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sigma_{\bar{P}_1}} = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sqrt{\frac{P_0 q_0}{n}}} = \frac{(0.6 - 0.666)}{\sqrt{\frac{(0.666)(0.334)}{5}}} = -0.314$$



Como $Z \in (-1.96, 1.96)$, se acepta H_0 , es decir que no hay una diferencia significativa en los conglomerados de células entre el grupo control y el grupo tratado con FESC-Dipina al 5% de significancia o al 95% de confianza.

PULMON

TOXICIDAD CRONICA (6 MESES)

P_7 = Conglomerado de células fagocíticas.

$n = 8$

Grupo control = $n_0 = 3 \rightarrow 2 \rightarrow \bar{P}_0 = 0.666 \rightarrow \bar{q}_0 = 0.333$

Grupo tratado = $n_1 = 5 \rightarrow 4 \rightarrow \bar{P}_1 = 0.8 \rightarrow \bar{q}_1 = 0.2$

$$1) H_0 = P_0 = \bar{P}_1$$

$$H_A = P_0 \neq \bar{P}_1$$

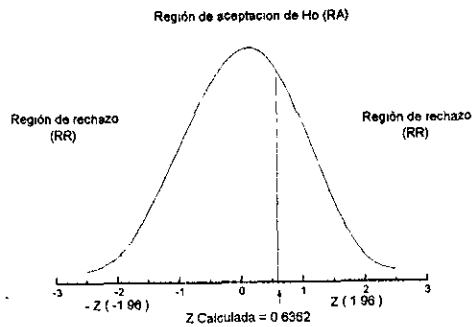
$$2) \alpha = 0.05 \Rightarrow (-Z_{\alpha/2}, Z_{\alpha/2}) \Rightarrow (-1.96, 1.96)$$

$\gamma = 95\%$

3) Rechacese H_0 si $Z \notin (-1.96, 1.96)$

Aceptese en caso contrario

$$Z = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sigma_{\bar{P}_1}} = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sqrt{\frac{P_0 q_0}{n}}} = \frac{(0.8 - 0.666)}{\sqrt{\frac{(0.333)(0.666)}{5}}} = 0.6362$$



Como $Z \in (-1.96, 1.96)$, se acepta H_0 , es decir que no hay diferencia significativa en el conglomerado de células entre el grupo control y el grupo tratado con FESC-Dipina al 5% de significancia o al 95% de confianza.

PULMON

TOXICIDAD CRONICA (4.5 MESES)

P_1 = Compactación alveolar
 $n = 8$

Grupo control = $n_0 = 3 \rightarrow 1 \rightarrow \bar{P}_0 = 0.333 \rightarrow \bar{q}_0 = 0.666$

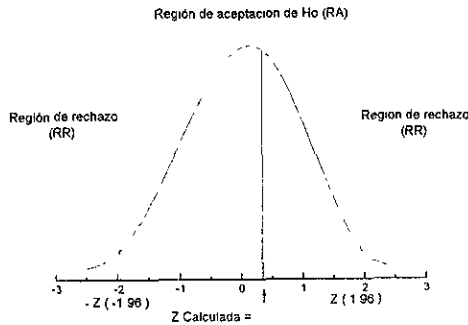
Grupo tratado = $n_1 = 5 \rightarrow 2 \rightarrow \bar{P}_1 = 0.4 \rightarrow \bar{q}_1 = 0.6$

$$1) H_0 = P_0 = \bar{P}_1 \\ H_A = P_0 \neq \bar{P}_1$$

$$2) \alpha = 0.05 \Rightarrow (-Z_{\alpha/2}, Z_{\alpha/2}) \Rightarrow (-1.96, 1.96) \\ \gamma = 95\%$$

3) Rechacese H_0 si $Z \notin (-1.96, 1.96)$
Aceptese en caso contrario

$$Z = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sigma_{\bar{P}_1}} = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sqrt{\frac{P_0 q_0}{n}}} = \frac{(0.4 - 0.333)}{\sqrt{\frac{(0.333)(0.666)}{5}}} = 0.318$$



Como $Z \in (-1.96, 1.96)$, se acepta H_0 , es decir que no hay diferencia significativa en la compactación alveolar entre el grupo control y el grupo tratado con FESC-Dipina al 5% de significancia o al 95% de confianza.

PULMON

TOXICIDAD CRONICA (6 MESES)

P_1 = Compactación alveolar
 $n = 9$

Grupo control = $n_0 = 3 \rightarrow 2 \rightarrow \bar{P}_0 = 0.333 \rightarrow \bar{q}_0 = 0.666$

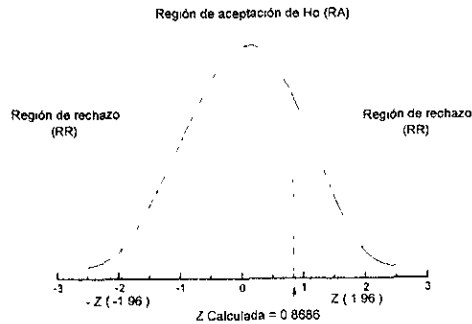
Grupo tratado = $n_1 = 6 \rightarrow 4 \rightarrow \bar{P}_1 = 0.5 \rightarrow \bar{q}_1 = 0.5$

$$1) H_0 = P_0 = \bar{P}_1 \\ H_A = P_0 \neq \bar{P}_1$$

$$2) \alpha = 0.05 \Rightarrow (-Z_{\alpha/2}, Z_{\alpha/2}) \Rightarrow (-1.96, 1.96) \\ \gamma = 95 \%$$

3) Rechacese H_0 si $Z \notin (-1.96, 1.96)$
Aceptese en caso contrario

$$Z = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sigma_{\bar{P}_1}} = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sqrt{\frac{P_0 q_0}{n}}} = \frac{(0.5 - 0.333)}{\sqrt{\frac{(0.333)(0.666)}{6}}} = 0.8686$$



Como $Z \in (-1.96, 1.96)$, se acepta H_0 , es decir que no hay diferencia significativa en la compactación alveolar entre el grupo control y el grupo tratado con FESC-Dipina al 5% de significancia o al 95% de confianza.

RIÑÓN

ORGANO	ANIMALES	3 MESES	4.5 MESES	6 MESES
RIÑÓN	CONTROL $n_0 = 3$ TRATAMIENTO $n_1 = 5$	$R_1 \rightarrow n_0 = 1$ $n_1 = 2$	$R_1 \rightarrow n_0 = 0$ $n_1 = 0$	
		$R_2 \rightarrow n_0 = 1$ $n_2 = 3$	$R_2 \rightarrow n_0 = 1$ $n_2 = 4$	$R_2 \rightarrow n_0 = 1$ $n_2 = 4$
		$R_3 \rightarrow n_0 = 0$ $n_3 = 1$	$R_3 \rightarrow n_0 = 2$ $n_3 = 1$	$R_3 \rightarrow n_0 = 1$ $n_3 = 0$
		$R_4 \rightarrow n_0 = 3$ $n_4 = 0$		
		$R_5 \rightarrow n_0 = 1$ $n_5 = 5$	$R_5 \rightarrow n_0 = 2$ $n_5 = 5$	$R_5 \rightarrow n_0 = 1$ $n_5 = 4$

n_0 = animales control que presentan la característica perteneciente a cada prueba
 n_1 = animales tratados que presentan la característica perteneciente a cada prueba

R_1 = Glomerulitis

R_2 = Congestión generalizada

R_3 = Infiltración leucocitaria

R_4 = Sin cambio patológico aparente

R_5 = Glomerulos aislados destruidos

RIÑÓN

TOXICIDAD SUBCRONICA (3 MESES)

$R_2 =$ Congestión generalizada

$n = 8$

Grupo control = $n_0 = 3 \rightarrow 1 \rightarrow \bar{P}_0 = 0.333 \rightarrow \bar{q}_0 = 0.666$

Grupo tratado = $n_1 = 5 \rightarrow 3 \rightarrow \bar{P}_1 = 0.6 \rightarrow \bar{q}_1 = 0.4$

1) $H_0 = P_0 = \bar{P}_1$

$H_A = P_0 \neq \bar{P}_1$

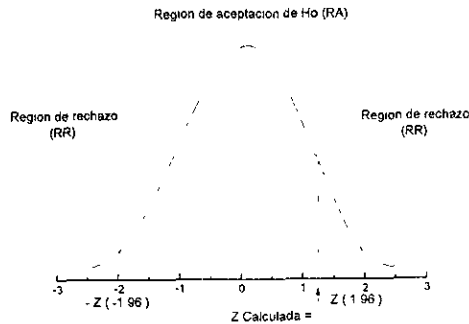
2) $\alpha = 0.05 \Rightarrow (-Z_{\alpha/2}, Z_{\alpha/2}) \Rightarrow (-1.96, 1.96)$

$\gamma = 95\%$

3) Rechacese H_0 si $Z \notin (-1.96, 1.96)$

Aceptese en caso contrario

$$Z = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sigma_{\bar{P}_1}} = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sqrt{\frac{P_0 q_0}{n}}} = \frac{(0.6 - 0.333)}{\sqrt{\frac{(0.333)(0.666)}{5}}} = 1.26$$



Como $Z \in (-1.96, 1.96)$, se acepta H_0 , es decir que no hay diferencia significativa en la congestión generalizada entre el grupo control y el grupo tratado con FESC-Dipina al 5% de significancia o al 95% de confianza.

RIÑÓN

TOXICIDAD CRONICA (4.5 MESES)

$R_2 =$ Congestión generalizada
 $n = 8$

Grupo control = $n_0 = 3 \rightarrow 1 \rightarrow \bar{P}_0 = 0.333 \rightarrow \bar{q}_0 = 0.666$

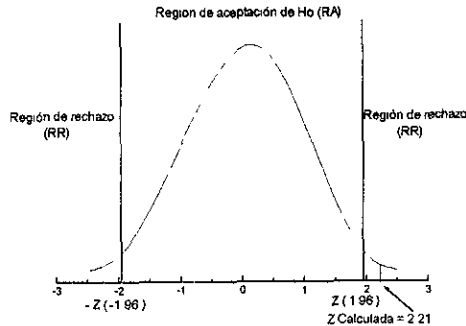
Grupo tratado = $n_1 = 5 \rightarrow 4 \rightarrow \bar{P}_1 = 0.8 \rightarrow \bar{q}_1 = 0.2$

$$1) H_0 = P_0 = \bar{P}_1 \\ H_A = P_0 \neq \bar{P}_1$$

$$2) \alpha = 0.05 \Rightarrow (-Z_{\alpha/2}, Z_{\alpha/2}) \Rightarrow (-1.96, 1.96) \\ \gamma = 95 \%$$

3) Rechacese H_0 si $Z \notin (-1.96, 1.96)$
Aceptese en caso contrario

$$Z = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sigma_{\bar{P}_1}} = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sqrt{\frac{P_0 q_0}{n}}} = \frac{(0.8 - 0.333)}{\sqrt{\frac{(0.333)(0.666)}{5}}} = 2.21$$



Como $Z \notin (-1.96, 1.96)$ se rechaza H_0 , es decir que hay diferencia significativa en la congestión generalizada entre el grupo control y el grupo tratado con FESC-Dipina al 5% de significancia o al 95% de confianza.

RIÑÓN

TOXICIDAD CRONICA (6 MESES)

R_2 = Congestión generalizada
 $n = 7$

Grupo control = $n_0 = 3 \rightarrow 1 \rightarrow \bar{P}_0 = 0.333 \rightarrow \bar{q}_0 = 0.666$

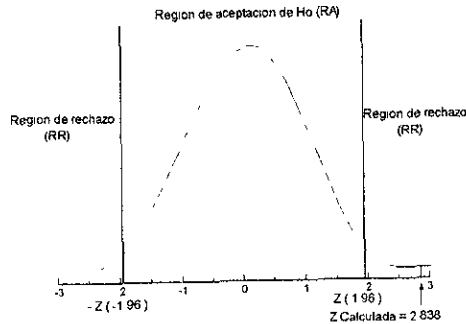
Grupo tratado = $n_1 = 4 \rightarrow 4 \rightarrow \bar{P}_1 = 1 \rightarrow \bar{q}_1 = 0$

$$1) H_0 = P_0 = \bar{P}_1 \\ H_A = P_0 \neq \bar{P}_1$$

$$2) \alpha = 0.05 \Rightarrow (-Z_{\alpha/2}, Z_{\alpha/2}) \Rightarrow (-1.96, 1.96) \\ \gamma = 95\%$$

3) Rechacese H_0 si $Z \notin (-1.96, 1.96)$
Aceptese en caso contrario

$$Z = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sigma \bar{P}_1} = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sqrt{\frac{P_0 q_0}{n}}} = \frac{(1 - 0.333)}{\sqrt{\frac{(0.333)(0.666)}{4}}} = 2.838$$



Como $Z \notin (-1.96, 1.96)$, se rechaza H_0 , es decir que hay diferencia significativa en la congestión generalizada entre el grupo control y el grupo tratado con FESC-Dipina al 5% de significancia o al 95% de confianza.

INTESTINO DELGADO

		3 MESES	4 MESES	6 MESES
INTESTINO DELGADO	CÓNTROL $n_0 = 3$ TRATAMIENTO $n_1 = 5$	$I_1'' \rightarrow n_0 = 2$ $n_1 = 4$	$I_1'' \rightarrow n_0 = 1$ $n_1 = 2$	$I_1'' \rightarrow n_0 = 2$ $n_1 = 5$
		$I_2'' \rightarrow n_0 = 1$ $n_2 = 0$	$I_2'' \rightarrow n_0 = 2$ $n_2 = 1$	$I_2'' \rightarrow n_0 = 3$ $n_2 = 5$
		$I_3'' \rightarrow n_0 = 1$ $n_3 = 3$	$I_3'' \rightarrow n_0 = 1$ $n_3 = 3$	$I_3'' \rightarrow n_0 = 1$ $n_3 = 4$
		$I_4'' \rightarrow n_0 = 0$ $n_4 = 3$	$I_4'' \rightarrow n_0 = 0$ $n_4 = 3$	$I_4'' \rightarrow n_0 = 1$ $n_4 = 2$

n_0 = animales control que presentan la característica perteneciente a cada prueba
 n_1 = animales tratados que presentan la característica perteneciente a cada prueba

I_1'' = Enteritis.

I_2'' = Destrucción de la porción apical de las vellosidades.

I_3'' = Respuesta inflamatoria.

I_4'' = Hipersecreción de la mucosa.

INTESTINO DELGADO

TOXICIDAD SUBCRONICA (3 MESES)

$I_3 =$ Respuesta inflamatoria

$n = 8$

Grupo control = $n_0 = 3 \rightarrow 1 \rightarrow \bar{P}_0 = 0.333 \rightarrow \bar{q}_0 = 0.666$

Grupo tratado = $n_1 = 5 \rightarrow 3 \rightarrow \bar{P}_1 = 0.6 \rightarrow \bar{q}_1 = 0.4$

1) $H_0 = P_0 = \bar{P}_1$

$H_A = P_0 \neq \bar{P}_1$

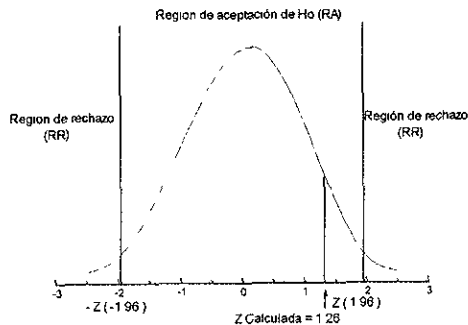
2) $\alpha = 0.05 \Rightarrow (-Z_{\alpha/2}, Z_{\alpha/2}) \Rightarrow (-1.96, 1.96)$

$\gamma = 95\%$

3) Rechacese H_0 si $Z \notin (-1.96, 1.96)$

Aceptese en caso contrario

$$Z = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sigma_{\bar{P}_1}} = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sqrt{\frac{P_0 q_0}{n}}} = \frac{(0.6 - 0.333)}{\sqrt{\frac{(0.333)(0.666)}{5}}} = 1.26$$



Como $Z \in (-1.96, 1.96)$, se acepta H_0 , es decir que no hay diferencia significativa en la respuesta inflamatoria entre el grupo control y el grupo tratado con FES-Dipina al 5% de significancia o al 95% de confianza..

INTESTINO DELGADO

TOXICIDAD CRONICA (4.5 MESES)

$I_3 =$ Respuesta inflamatoria
 $n = 5$

Grupo control = $n_0 = 2 \rightarrow 1 \rightarrow \bar{P}_0 = 0.5 \rightarrow \bar{q}_0 = 0.5$

Grupo tratado = $n_1 = 3 \rightarrow 3 \rightarrow \bar{P}_1 = 1 \rightarrow \bar{q}_1 = 0$

1) $H_0 = P_0 = \bar{P}_1$

$H_A = P_0 \neq \bar{P}_1$

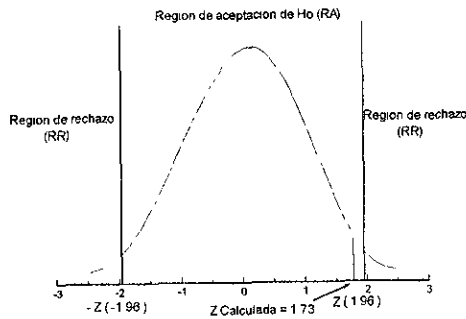
2) $\alpha = 0.05 \Rightarrow (-Z_{\alpha/2}, Z_{\alpha/2}) \Rightarrow (-1.96, 1.96)$

$\gamma = 95\%$

3) Rechacese H_0 si $Z \notin (-1.96, 1.96)$

Aceptese en caso contrario

$$Z = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sigma_{\bar{P}_1}} = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sqrt{\frac{P_0 q_0}{n}}} = \frac{(1 - 0.5)}{\sqrt{\frac{(0.5)(0.5)}{3}}} = 1.73$$



Como $Z \in (-1.96, 1.96)$, se acepta H_0 , es decir que no hay diferencia significativa en la respuesta inflamatoria entre el grupo control y el grupo tratado con FES-Dipina al 5% de significancia o al 95% de confianza.

INTESTINO DELGADO

TOXICIDAD CRONICA (6 MESES)

$I_3 =$ Respuesta inflamatoria
 $n = 9$

Grupo control = $n_0 = 3 \rightarrow 1 \rightarrow \bar{P}_0 = 0.333 \rightarrow \bar{q}_0 = 0.667$

Grupo tratado = $n_1 = 6 \rightarrow 4 \rightarrow \bar{P}_1 = 0.666 \rightarrow \bar{q}_1 = 0.334$

1) $H_0 = P_0 = \bar{P}_1$

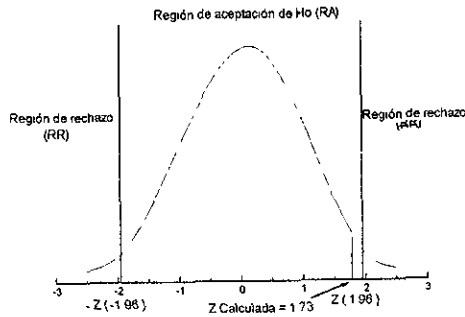
$H_A = P_0 \neq \bar{P}_1$

2) $\alpha = 0.05 \Rightarrow (-Z_{\alpha/2}, Z_{\alpha/2}) \Rightarrow (-1.96, 1.96)$

$\gamma = 95\%$

3) Rechacese H_0 si $Z \notin (-1.96, 1.96)$
Aceptese en caso contrario

$$Z = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sigma_{\bar{P}_1}} = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sqrt{\frac{P_0 q_0}{n}}} = \frac{(0.666 - 0.333)}{\sqrt{\frac{(0.333)(0.666)}{6}}} = 1.73$$



Como $Z \in (-1.96, 1.96)$, se acepta H_0 , es decir que no hay diferencia significativa en la respuesta inflamatoria entre el grupo control y el grupo tratado con FES-Dipina al 5% de significancia o al 95% de confianza.

INTESTINO DELGADO

TOXICIDAD SUBCRONICA (4.5 MESES)

$I_1 = \text{Enteritis}$

$n = 8$

Grupo control = $n_0 = 3 \rightarrow 2 \rightarrow \bar{P}_0 = 0.666 \rightarrow \bar{q}_0 = 0.334$

Grupo tratado = $n_1 = 5 \rightarrow 5 \rightarrow \bar{P}_1 = 0.8 \rightarrow \bar{q}_1 = 0.2$

1) $H_0 = P_0 = \bar{P}_1$

$H_A = P_0 \neq \bar{P}_1$

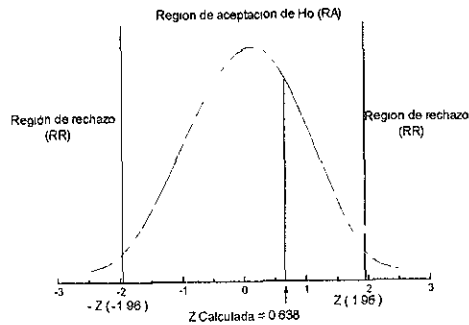
2) $\alpha = 0.05 \Rightarrow (-Z_{\alpha/2}, Z_{\alpha/2}) \Rightarrow (-1.96, 1.96)$

$\gamma = 95\%$

3) Rechacese H_0 si $Z \notin (-1.96, 1.96)$

Aceptese en caso contrario

$$Z = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sigma_{\bar{P}_1}} = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sqrt{\frac{P_0 q_0}{n}}} = \frac{(0.8 - 0.666)}{\sqrt{\frac{(0.666)(0.334)}{5}}} = 0.638$$



Como $Z \in (-1.96, 1.96)$, se acepta H_0 , es decir que no hay diferencia significativa de la enteritis entre el grupo control y el grupo tratado con FESC-Dipina en un 5% de significancia o al 95% de confianza.

INTESTINO DELGADO

TOXICIDAD CRONICA (4 5 MESES)

$I_1 = \text{Enteritis}$

$n = 5$

Grupo control = $n_0 = 2 \rightarrow 1 \rightarrow \bar{P}_0 = 0.5 \rightarrow \bar{q}_0 = 0.5$

Grupo tratado = $n_1 = 3 \rightarrow 3 \rightarrow \bar{P}_1 = 1 \rightarrow \bar{q}_1 = 0.333$

$$1) H_0 = P_0 = \bar{P}_1$$

$$H_A = P_0 \neq \bar{P}_1$$

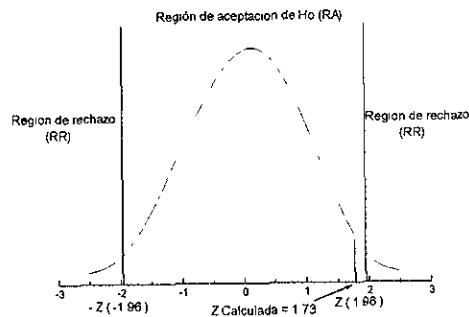
$$2) \alpha = 0.05 \Rightarrow (-Z_{\alpha/2}, Z_{\alpha/2}) \Rightarrow (-1.96, 1.96)$$

$$\gamma = 95\%$$

3) Rechacese H_0 si $Z \notin (-1.96, 1.96)$

Aceptese en caso contrario

$$Z = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sigma_{\bar{P}_1}} = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sqrt{\frac{P_0 q_0}{n}}} = \frac{(1 - 0.5)}{\sqrt{\frac{(0.5)(0.5)}{3}}} = 1.73$$



Como $Z \in (-1.96, 1.96)$, se acepta H_0 , es decir que no hay diferencia significativa en la enteritis entre el grupo control y el grupo tratado con FESC-Dipina, al 5% de significancia, o al 95% de confianza.

INTESTINO DELGADO
TOXICIDAD CRONICA (6 MESES)

$I_1 = \text{Enteritis}$
 $n = 9$

Grupo control = $n_0 = 3 \rightarrow 2 \rightarrow \bar{P}_0 = 0.66 \rightarrow \bar{q}_0 = 0.33$

Grupo tratado = $n_1 = 6 \rightarrow 5 \rightarrow \bar{P}_1 = 0.83 \rightarrow \bar{q}_1 = 0.17$

1) $H_0 = P_0 = \bar{P}_1$

$H_A = P_0 \neq \bar{P}_1$

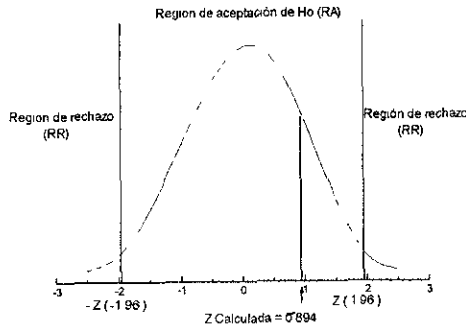
2) $\alpha = 0.05 \Rightarrow (-Z_{\alpha/2}, Z_{\alpha/2}) \Rightarrow (-1.96, 1.96)$

$\gamma = 95 \%$

3) Rechacese H_0 si $Z \notin (-1.96, 1.96)$

 Aceptese en caso contrario

$$Z = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sigma \bar{P}_1} = \frac{\bar{P}_1 - P_0}{\sqrt{\frac{P_0 q_0}{n}}} = \frac{(0.83 - 0.66)}{\sqrt{\frac{(0.66)(0.33)}{6}}} = 0.894$$



Como $Z \in (-1.96, 1.96)$, se acepta H_0 , es decir que no hay diferencia significativa en la enteritis entre el grupo control y el grupo tratado con FESC-Dipina al 5% de significancia o al 95% de confianza.

VIII.- BIBLIOGRAFIA

- 1.- ALMANZA FUENTES I. Toxicidad de FESC-DIPINA. Tesis Licenciatura. FESC-UNAM. 1996
- 2.- ALVAREZ GONZALEZ R. Estudio Genotóxico de un compuesto 1,4-dihidropiridinico (FESC-DIPINA), mediante la evaluación de la frecuencia de intercambio de cromátidas hermanas. FESC- UNAM 1997.
- 3.- AMERICAN CIENTIFIC . Medicina cardiovascular , sistema de actualización, Edit. Científica Médica Latinoamericana 1992 Tomo I
- 4.- DOMAROUS . AV. Medicina Interna. Tomo I. Edit . Marín. México 1978.
- 5.- ESCOBAR J. Y COL. Efecto de FESC-DIPINA en el modelo de infarto miocárdico inducido mediante la oclusión coronaria en rata consciente. Memorias del XIX Congreso Nacional de Farmacología. México 1996.
- 6.- FERNICOLA A G.G. JAUGE P. Nociones básicas de toxicología. CINVESTAV México 1985.
- 7.- GLAISTER . J. Métodos de patología toxicológica. Edit Taylor & Francis. London . 1986.
- 8.- GOODMAN L.S. GILMAN.A. Bases farmacológicas de la terapéutica Edit.Interamericana .5a.edic.1980.México D.F
- 9.- GREEP R. Histología Edit El Ateneo. 3a. Ed. México 1984.
- 10.- GUYTON C.A.Tratado de fisiología médica .Edit.Interamericana .3a.edición
- 11.- HERNANDEZ GALLEGOS Z. Síntesis , actividad hipertensiva y susceptibilidad a oxidación microsomal de nuevas 1,4 dihidropiridinas (bloqueadores de la entrada de calcio) y el análisis de sus relaciones estructura actividad. Tesis doctoral . CINVESTAV. IPN . México 1994
- 12.- HERNANDEZ, H. HECTOR Hipertensión arterial Experimental y actualización Edit. Instituto Sintex México, D F. 1991
- 13.- JUNQUEIRA L. CARNEIRO J. Histología básica 3a. ed. Edit. Salvat México, 1988.

- 14.- KRUPP M.A. Chatton M.J. Diagnóstico clínico y de tratamiento. Edit. El manual moderno. 15 ava. edic. 1980 MEX D.F.
- 15.- LEESON S. Thomas. Leeson C .Roland . Histología . Nueva edit Interamericana ,México D.F. 1984.
- 16.- MARCUS CHAMER. J. ARRIAGA. J. Inhibidores de la ECA. Edit . Interamericana . McGraw-Hill. 1a. edic. Mex 1992.
- 17.- MARTINEZ A.L. Y COL. Efecto de FESC-DIPINA sobre arritmias consecutivas a la isquemia- reperfusión miocárdica en rata. Memorias del XIX Congreso Nacional de Farmacología. México 1996.
- 18.- MARTINEZ A.L. ET AL. Effect of FESC-DIPINE a new antihypertensive drug on the incidence of reperfusion arrhythmias in vivo anaesthetized rat. Memories of XIV International symposium on medicinal chemistry. Maastrich. The Netherlands. 1996
- 19.- NIGEL. L. GILCHRIST M.B. Nuevas opciones para el tratamiento de primera línea.
- 20.- NORMAN M. KAPLAN M.D. La hipertensión clínica . Vol 2 . Edit, Médica Hispanoamericana. 1991
- 21.- OLGIVIE, Robertson. Histopatología . Edit. Interamericana .MEX. 1970
- 22.- OMS . Nociones básicas de toxicología. 1985
- 23.- PARDELL . H. Antihypertensive strategy . A current and prospective review. Am. J. Cardiol. 1990.
- 24.- PAQUETTE . L. Fundamentos de química heterocíclica. Edit Limusa. México 1992.
- 25.- PEDRAZA DELGADO A.L. Determinación del efecto hipotensor de 12 compuestos 1, 4 dihidropiridínicos, utilizando modelo de presión arterial directa en rata anestesiada, tesis de licenciatura. FESC-UNAM 1995
- 26.- SALERNO S. ZUBIGE. JR. F.T. Calcium channel, what do the second generation agents have to offer. Postgraduate medicine. 1994
- 27.- SHAPIRO L.M. La hipertensión. Mosby year book. 3a. Edic. 1992
- 28.- STRUBE GILLIAM . STRUBE J. R. Inhibidores de la ECA en hipertensión, guías para los médicos generales.

review.Am.J.Cardiol .1990 .65:2H-5H

29.- VANHOUTTE . P.M. PAULETI R. The who classification of calcium antagonist Trends in pharmacol Sci. 1987.

30.- WEISS L. Histología, Biología Tisular y Celular. Ed. Interamericana. Buenos Aires Argentina. 1986.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA